























# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.**

---

**Zweite Abteilung. XV. Band.**





# **CENTRALBLATT**

für

## **Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.**

---

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,  
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck  
in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freuden-  
reich in Bern, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in  
Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Prof. Dr. M. C.  
Potter, Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Prof.  
Dr. Samuel C. Prescott in Boston, Prof. Dr. Erwin F. Smith in  
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,  
Prof. Dr. Van Laer in Gand, Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof.  
Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

**Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin**

und

**Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.**

---

**Zweite Abteilung. XV. Band.**

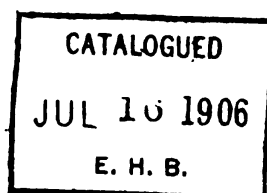
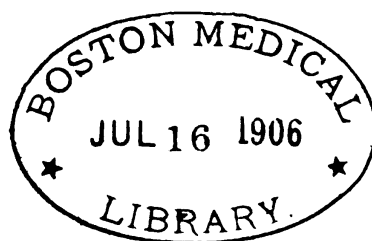
**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie  
und Pflanzenpathologie.**

**Mit 15 Tafeln und 17 Abbildungen im Texte.**

---



Jena,  
Verlag von Gustav Fischer.  
1906.





8969



Nachdruck verboten.

## Ueber zwei neue Farbstoffbildende Bakterien.

Von S. v. Bazarewski in Riga.

Farbstoffbakterien sind in der freien Natur ziemlich verbreitet. Sie wachsen auf Agar und Gelatine, und besonders gut auf Kartoffeln, mit charakteristischer Farbe, die für die Bestimmung der Bakterien ein sehr schätzbares Merkmal liefern. Die Farbe kann unter gewissen Kulturbedingungen vorübergehend ausbleiben, aber niemals in eine andere als die spezifische umschlagen. Die chemischen Eigenschaften der Bakterienfarbstoffe und die Bedeutung derselben für die Unterscheidung der einzelnen Arten voneinander hat Schneider<sup>1)</sup> besonders eingehend dargelegt; nach seinen Versuchen lassen sich die meisten von jenen Arten, welche scheinbar gleichen Farbstoff erzeugen und in anderer Hinsicht einander ähnlich sind, nicht schwer durch die Reaktionen ihrer Farbstoffe unterscheiden.

Die Pigmente, die von Bakterien abgeschieden und größtenteils nicht im Bakterienkörper abgelagert sind, zeichnen sich durch große Mannigfaltigkeit ihrer Nüancen aus.

Am verbreitetsten sind die Bakterien, die gelben Farbstoff erzeugen; am seltensten die schwarzen und violetten Farbstoff erzeugenden. Manche Bakterien produzieren sogar zu gleicher Zeit zwei Farbstoffe, von denen einer gewöhnlich im Wasser löslich ist und in Nährsubstanz bei Kulturen diffundiert. Aber solche „bichromopare“, wie ich sie zu nennen mir erlaube, Bakterien kommen seltener vor.

Zu dieser großen Zahl von Farbstoffbakterien gehören auch die von mir neu gefundenen und beschriebenen Mikroorganismen. Ich habe zwei neue Arten, einen Bacillus und einen Coccus, gefunden und untersucht.

Der neue Bacillus erzeugt einen braunen Farbstoff und wurde von mir *Bacillus brunneus rigensis* nov. sp. benannt.

Der neue Coccus produziert einen gelben Farbstoff und ist von mir als *Micrococcus citreus rigensis* bezeichnet worden.

### *Bacillus brunneus rigensis* nov. sp.

Er ist ein ovales, bewegliches Stäbchen; seine Länge beträgt 1,7—2,5  $\mu$ , Breite 0,75  $\mu$ ; er kommt gewöhnlich einzeln vor, nur ausnahmsweise sieht man ein paar Stäbchen zusammen; Ketten von mehreren Stäbchen habe ich nicht bemerkt. Er ist aus Erde isoliert.

Die Beweglichkeit ist in älteren Bouillonkulturen sehr stark, aber auf jungen, nur 12 Stunden alten Agarstrichkulturen konnte ich keine beweglichen Formen finden, und dieser Umstand hinderte mich sehr an der Färbung der Geißeln. Am besten gelang es mir, gefärbte Geißelpräparate zu bekommen, wenn der Bacillus in Giltayscher Nährlösung kultiviert wurde.

1) Schneider, Paul, Die Bedeutung der Bakterienfarbstoffe für die Unterscheidung der Arten. [Inaug.-Dissert.] Basel 1894. (Citirt nach Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. p. 633.)

Die Geißeln sind ziemlich regelmäßig gewunden und je nach dem Alter der Kulturen verschieden lang; in jungen, 3-tägigen Kulturen in der Nährlösung nach Giltay sind sie in gefärbten Präparaten nur 4—5  $\mu$  lang, ältere, 2 Wochen alte, Bakterien haben schon 10—15- $\mu$  lange Geißeln, unter denen mehrere abgebrochen sind.

Die Geißeln lassen sich nach dem Loefflerschen Verfahren ziemlich gut färben, jedoch färben sie sich viel besser, wenn man zu den 16 ccm normaler Löfflerschen Beize noch zwei Tropfen 1-proz. Schwefelsäure hinzugießt.

Mit den gebräuchlichen Anilinfarben ist dieser Bacillus gut färbbar, nach Gram aber entfärbt er sich.

Sporen wurden niemals beobachtet; in älteren Kulturen auf Agar und in Bouillon bilden sich sehr gut entwickelte Kapseln; diese letzteren sind ca. 3  $\mu$  lang und 2  $\mu$  breit, färben sich nach Behandlung mit Loefflerscher Beize sehr gut und sind dann scharf und deutlich sichtbar.

Auf der Bouillongelatineplatte wächst dieses Stäbchen gut und sicher; 2 Tage nach dem Ausgießen der Platten sind Kolonien des Bacillus bei Zimmertemperatur schon mit unbewaffneten Augen als kleine, gelblichbraune Pünktchen sichtbar.

Die auf der Oberfläche der Gelatine liegenden Kolonien sehen bei 90-facher Vergrößerung wie unregelmäßig runde Scheiben aus; diese letzteren sind matt, grau, durchscheinend, gekörnt und mit ganz glatter Randpartie, in der Mitte sind sie undurchsichtig, dunkler, und bei älteren Kolonien auch verflochten.

Oberflächlich aufliegende Kolonien haben Aehnlichkeit mit den Kolonien des *Bacterium coli commune*, wachsen ziemlich rasch und erreichen nach 4 Tagen bei einer Temperatur von 17,5° C eine Größe von 3 mm.

Die im Inneren der Gelatine wachsenden Kolonien haben eine langsamere Entwicklung und sehen bei einer schwachen Vergrößerung wie braune, körnige oder ovale Scheibchen mit ganz glattem und scharfem Rande aus.

Ungefähr nach 1 Woche tritt bei Zimmertemperatur eine vollständige Verflüssigung der Gelatineplatte ein. Bei dem Beginn der Verflüssigung der Gelatine tritt auch eine Veränderung des äußeren Aussehens der Kolonien auf den Platten ein; die im Inneren liegenden Kolonien werden deutlicher und gröber gekörnt und ihre vorher ganz glatte Randpartie wird allmählich mehr gezähnt, die aufliegenden werden dabei dunkler, an den Rändern undurchsichtiger und im Zentrum geschichtet.

In Bouillongelatinestichkultur wächst der Bacillus gleichmäßig dem Stiche nach, nur auf der Oberfläche der Gelatine bei der Einstichstelle bildet er eine kleine matte, gelbliche Auflagerung. Später fängt bei ca. 1 Woche alten Kulturen die Gelatine sich zu verflüssigen an; diese Verflüssigung geht bei Zimmertemperatur mäßig schnell vor sich und tritt trichterförmig bis sackförmig ein.

Im Verflüssigungskanal setzt sich die trübe, flüssige Gelatine ab und unten bildet sich ein reichlicher Bodensatz von gelbbrauner Farbe.

Nach 1 Monat ungefähr wird die Gelatine im Probiergläschen vollständig verflüssigt; sie nimmt dann allmählich eine dunklere Farbe durch einen durch den Bacillus erzeugten braunen Farbstoff an, bleibt aber später klar und bildet beim Umschütteln Niederschlagswolken.

Werden die geimpften Bouillongelatinegläschen bei einer niederen Temperatur, nicht höher als 12° C, gehalten, so bleibt die Gelatine fest und der Bacillus wächst mehr auf der Oberfläche als im Stich der Gelatine; hier bildet er eine bräunliche, matte, krustige Auflagerung, die schon nach 2 Wochen bis 1 cm breit ist.

Auf schrägem Fleischbouillonagar wächst unser Bacillus gut und dem Impfstreiche nach; schon 24 Stunden nach dem Impfen bildet sich auf dem Agar ein schmaler, weißlicher Belag; dieser letztere wird immer breiter und nimmt eine mehr dunkle, gelbliche Farbe an, bis er endlich die nicht ganze Oberfläche des schrägen Agars bedeckt; jetzt bleibt die Auflagerung des Bacillus glänzend gelblichbraun und ganz flach auf dem Agar liegen.

Das Kondensationswasser ist in Agarprobierröhrchen trübe und mit bräunlichem Bodensatz. In älteren Kulturen nimmt später die ganze Agarmasse im Reagenzglaschen eine bräunliche Farbe an.

Werden aber die Agarstrichkulturen bei 37° C einige Zeit gehalten, so entwickelt unser Bacillus eine buntere orangegelbe Farbe.

In Birnendekoktagar wächst der Bacillus ebenso gut wie in Bouillonagar, bildet aber hier auf der Oberfläche einen dunkleren, braunen Belag.

Sehr gut wächst unser Bacillus noch in Fleischbouillon; hier bildet er schon nach 2 Tagen bei Zimmertemperatur eine leichte, bräunliche Haut auf der Oberfläche der Nährflüssigkeit.

Bouillon wird trüb und Kahlhaut wird schwerer und derber, bis sie endlich nach unten sinkt. In Bouillon zeigt sich in älteren Kulturen auch ein Niederschlag von bräunlicher Farbe, der beim Umschütteln emporsteigt; die Bouillon selbst wird klarer und bleibt alkalisch.

In Bouillon mit 2 Proz. Traubenzucker tritt schon nach 24 Stunden bei 17,5° C eine starke Trübung ein, ebenso gut wird eine starke Haut auf der Oberfläche und ein bräunlicher Niederschlag in diesem Falle gebildet. Die Reaktion der Bouillon bleibt auch alkalisch. Eine Zugabe von Traubenzucker in Bouillon macht die Beweglichkeit der Stäbchen lebhafter und anhaltender.

In gesäuerter Bouillon, wozu 10 ccm Normalschwefelsäure pro Liter Nährlösung gegeben wurden, wächst der Bacillus gut, bildet noch eine Haut und behält seine Beweglichkeit. Werden pro Liter Bouillon 20 ccm Normalschwefelsäure zugegeben, so paßt diese Nährlösung dem Bacillus nicht mehr.

Die alkalische Bouillon verträgt er besser; bei einer Zugabe von 10 ccm Normalnatronlauge gedeiht er sehr gut, in Bouillon mit 20 ccm Normalnatronlauge pro Liter wächst er noch und bildet die charakteristische Haut und den Bodensatz.

In Molkengelatine wächst der Bacillus gut.

Auf gekochten Kartoffelscheiben wächst er sehr üppig mit schöner Farbe. Zuerst bilden sich eidottergelbe Auflagerungen längs des Impfstreiches, die sich immer weiter und flach auf der Oberfläche der Kartoffeln ausbreiten, dunkler werden, bis sie endlich braun, glänzend und auf der ganzen Oberfläche der Kartoffeln fest und flach anliegen werden. Die Kartoffelscheiben färben sich selbst ebenso braun wie die Bakterienmasse, weil der braune Farbstoff die Kartoffelsubstanz vollständig durchtränkt. Wenn man aber die Kartoffeln mit Kreidepulver bedeckt, so bildet der Bacillus einen etwas helleren Farbstoff.

Außerdem wurden Versuche gemacht, ob der Bacillus nicht Salpeter-

reduktion hervorrufen kann, dazu wurde von mir die sogenannte Giltaysche Nährlösung<sup>1)</sup> benutzt. Sie bestand aus:

1000	g	Wasser,
2	"	Kali oder Natronsalpeter,
5	"	Citronensäure,
2	"	schwefelsaurem Magnesium,
2	"	Monokaliumphosphat,
0,2	"	Chlorcalcium,
Spur		Eisenchlorid,
2	g	Traubenzucker.

Auch in dieser Nährlösung wurde ein Wachstum unseres *Bacillus* beobachtet, jedoch schwächer als in Bouillon. Es wurde eine bräunliche Haut und schwarzer Bodensatz gebildet, aber die Entwicklung von Gasbläschen, wie man dies bei stark denitrifizierenden Arten beobachtet, war sehr gering. Erst nach 2 Wochen wurde die Bildung von Nitriten und Ammoniak mit Trommsdorfschen und Nesslerischen Reaktiven in Nährlösung sicher konstatiert.

In der sterilisierten Milch wurden nach der Impfung keine merklichen Veränderungen beobachtet. Ebenso wurden in Bouillon keine Gase, kein Ammoniak, Schwefelwasserstoff und Indol vom *Bacillus* gebildet.

Der *Bacillus brunneus rigensis* ist ein fakultativer Anaërobiont; bei Luftzutritt wächst er sehr gut; im sauerstofffreien Raum (durch Pyrogallol mit Kalilauge hergestellt) entwickelt er sich, doch etwas schwächer als bei Sauerstoffzutritt, und bildet keinen Farbstoff. Unter solchen anaërobischen Verhältnissen wurde nur eine leichte und farblose Haut auf der Oberfläche gebildet und die Bouillon selbst blieb klar.

In Gelatinerollkulturen entwickelte sich der *Bacillus* gleichmäßig in der ganzen Gelatine.

Die optimale Temperatur ist für unseren *Bacillus* 30° C; bei dieser Temperatur entwickelt er am besten seinen braunen Farbstoff; bei Zimmertemperatur (17,5° C) gedeiht er auch gut; bei 12° C wächst er schon langsamer, entwickelt aber noch braunen Farbstoff, verflüssigt aber nicht mehr Gelatine; bei 5° C ist die Entwicklung sehr kümmerlich und dies kommt wahrscheinlich der minimalen Temperatur für unseren *Bacillus* sehr nahe. Bei Bruttemperatur (37° C) wächst der *Bacillus* schwächer, mit anfangs orangegelber Farbe.

Die maximale Temperatur liegt für denselben bei 45° C.

Ein Erwärmen auf 52° C während 10 Minuten verträgt der *Bacillus* in Bouillongelatine und zeigt später ein normales Wachstum. Werden aber geimpfte Kulturen auf 100° C 10 Minuten lang erwärmt, so verlieren sie ihre Lebensfähigkeit vollständig. Ebenso hemmend auf diesen *Bacillus* wirkt eine Zugabe von 0,5-proz. Karbolsäure zur Nährlösung.

Für weiße Mäuse ist der *Bacillus* nicht pathogen; mit demselben geimpfte Tiere bleiben gesund und munter.

Das Tageslicht hat keinen Einfluß auf das Wachstum des *Bacillus* und die Bildung des Farbstoffes.

Der braune Farbstoff ist in Wasser und Alkohol löslich, in

1) Giltay et Aberson, Recherches sur un mode de denitrifikation. (Archives néerlandaises d. sc. nat. T. XXV. 1892. — Ref. nach Jahrb. v. Koch f. Gärungsorg. Bd. III. p. 226.)

Aether unlöslich; konzentrierte Salpetersäure verändert ihn nicht, ebenso unwirksam sind 10-proz. Kalilauge und 10-proz. Salzsäure.

Die Reaktion des Nährbodens scheint keinen Einfluß auf die Bildung des Farbstoffs auszuüben, er wird fast ebensogut in alkalischem wie in saurem Nährboden gebildet. Ohne Sauerstoff erzeugt der *Bacillus* keinen Farbstoff.

Unter den zahlreichen, schon beschriebenen Bacillen, die den braunen Farbstoff erzeugen können, sind die nächsten Arten: *Bacillus ranicida* Ernst und *Bacillus septicus* Babes. Der *Bacillus ranicida* Ernst<sup>1)</sup> [identisch mit *B. hydrophillus fuscus* Sanarelli<sup>2)</sup>] unterscheidet sich aber von meinem Stäbchen durch Bildung von Gasen in Agarstichkulturen, durch bläuliche Infloreszenz und noch dadurch, daß er die Bouillongelatine schon nach 3—4 Tagen verflüssigt, also viel rascher als meiner.

*Bacillus septicus* Babes<sup>3)</sup> unterscheidet sich wesentlich von meinem Stäbchen dadurch, daß er Gase bildet, auf Kartoffeln schwach wächst und in sauerstoffleerem Raum kümmerlich sich entwickelt.

#### *Micrococcus citreus rigensis* nov. sp.

Dieser Coccus wurde aus Laboratoriumsluft aufgefangen.

Er bildet runde, einzelne Zellen von einem Durchmesser von 1,2 bis 1,5  $\mu$ ; dieselben sind vollständig unbeweglich und kommen am häufigsten einzeln vor, jedoch findet man in Bouillon nicht selten außer einzelnen Zellen noch Gruppierungen von zwei oder von vier Zellen zu einem Viereck.

Dieser Coccus färbt sich gut mit gewöhnlichen Anilinfarben, nach Gram entfärbt er sich.

Er wächst auf allen gebräuchlichen Nährböden ziemlich gut, aber langsamer bei Zimmertemperatur als der vorher beschriebene *Bacillus*.

Auf Bouillongelatineplatten sind die Kolonien erst nach 4 Tagen bei 17,5° C sichtbar; bei dieser Temperatur wachsen sie langsam und erreichen erst nach 7 Tagen einen Durchmesser von 1½—2 mm.

Die oberflächlich auf der Gelatine liegenden Kolonien sind schwefelgelb und schön glänzend, rund, mit glatter Randpartie und liegen stark gewölbt auf der Gelatine; bei schwacher Vergrößerung sehen sie gekörnt und bei durchfallendem Licht gelblichgrau aus.

Kolonien, die im Inneren der Gelatineplatte wachsen, zeigen sich als unregelmäßig runde, braune und innen gekörnte Scheibchen; ihre Randpartie ist vollkommen glatt.

Später, erst nach 10 oder 14 Tagen, tritt eine Verflüssigung der Gelatine scheibenartig um die Kolonien auf und letztere senken sich in die Gelatine ein, bis endlich die ganze Platte verflüssigt wird.

In Gelatinestichkulturen entwickelt er sich ziemlich langsam. Anfangs entsteht auf der Oberfläche der Gelatine eine kleine, knopfförmige, schwefelgelbe Auflagerung; der Stichkanal ist in Form von kleineren Körnchen nur in seinem oberen Teile gut sichtbar, unten läuft er allmählich in einen blassen Faden aus.

Auch hier wächst der Coccus langsam und erst ungefähr nach

1) Ernst, Zieglers Beiträge zur pathol. Anatomie und allgem. Pathologie. Bd. VIII. 1890. p. 203.

2) Sanarelli, Centralbl. f. Bakt. Bd. IX. 1891. p. 193.

3) Babes, Septische Prozesse des Kindesalters. 1889. Alles zitiert nach Migula, System der Bakterien. Bd. II. I. p. 653, II. p. 646.



2 Wochen tritt eine merkliche Verflüssigung der Gelatine ein. Allmählich sinkt der gelbe Belag durch die beginnende muldenförmige oder trichterförmige Erweichung der Gelatine ein. Von der Unterfläche der Mulde setzt sich nur ein kurzer, schwach entwickelter, blasser Faden fort.

Erst nach ca. 3 Wochen tritt eine deutliche Verflüssigung der Gelatine ein; die untere Partie der flüssigen Gelatine ist ganz eben und von der noch festen Gelatine durch schwefelgelbe, ziemlich mächtige, nach unten sich setzende Bakterienmasse getrennt. Die verflüssigte Gelatine bleibt trüb. Eine vollständige Verflüssigung tritt im Probiergläschen niemals ein; die unterste Partie der Gelatine, ca. 1 cm dick, bleibt noch nach 4 Monaten fest, ganz klar und in der Farbe unverändert.

Auf schrägem Fleischbouillonagar entwickelt sich der Coccus etwas rascher als in Gelatine; längs dem Impfstriche entsteht ein schleimiger, feuchtglänzender Belag von schwefelgelber Farbe. Derselbe bleibt zuerst streng auf den Impfstrich beschränkt und wächst sehr langsam über denselben hinaus, so daß er nach 4 Monaten bei Zimmertemperatur nur 3—4 cm breit bleibt.

Das Kondensationswasser bleibt in Agarkulturen ganz klar und am Boden desselben bildet sich ein fester, gelber Niederschlag von Mikrokokken. Die Farbe der Strichkolonien auf dem Agar ist in der ersten Zeit weiß und geht erst nach 4—5 Tagen ins Gelbe über.

Auf Birnendekoktagar wächst der Coccus ebenso gut.

In Fleischbouillon wächst er gut, bildet einen festen, körnigen Bodensatz von gelber Farbe, der beim Schütteln in Wolken aufsteigt, die Bouillon selbst bleibt dabei klar und alkalisch.

Ein Zusatz von 2 Proz. Traubenzucker zur Bouillon beeinflusst das Wachstum nicht. Durch einen Zusatz von Natronlauge (10 ccm Normal-NaHO auf 1 l Bouillon) scheint aber die Entwicklung dieses Coccus etwas beeinträchtigt zu sein. Wird noch mehr Natronlauge (20 ccm Normal-NaHO auf 1 l) zugesetzt, so hört das Wachstum des Coccus ganz auf.

Ebenso verträgt unser Coccus in Bouillon noch eine Zugabe von 10 ccm Normal-Schwefelsäure auf 1 l Nährlösung, wird aber die Säuremenge vergrößert auf 20 ccm pro Liter Bouillon, so kann der Coccus in solcher Lösung nicht mehr wachsen.

Auf Kartoffeln wächst er etwas langsam und bildet einen schleimigen, matten Ueberzug; die Farbe desselben ist etwas dunkler als die der Agar- und Gelatinekulturen. Während des weiteren Wachstums erfährt der Ueberzug keine beträchtliche Dickenzunahme, er wird konsistenter, trockener und sieht dann dunkelchromgelb aus.

Der Ueberzug breitet sich in kleineren, dicht aufeinanderliegenden, runden Bakterienhäufchen längs des Impfstriches aus, so daß die Kartoffelscheiben niemals von der Bakterienmasse ganz bedeckt werden. Die Kartoffel selbst scheint unverändert zu sein.

In der Lösung von Giltay mit Salpeter wächst er gar nicht und die Lösung bleibt unverändert. Auch in sterilisierter Milch wurden keine merklichen Veränderungen nach der Impfung beobachtet.

Der Coccus ist streng aërob; im sauerstofffreien Raum konnte man kein Wachstum beobachten. In Gelatineschüttelkulturen entwickelte er sich nur in der oberen,  $\frac{1}{2}$  cm dicken Schicht, unten bleibt die Gelatine ganz unverändert.

Die Bildung von Säuren, Gasen, auch von Schwefelwasserstoff und Indol in Kulturen wurde nicht bemerkt. Der Geruch der Kulturen war wenig charakteristisch.

Die optimale Temperatur für unseren Coccus liegt bei 30° C, die maximale bei 50° C und die minimale Temperatur bei ca. 10° C; bei 5° C wächst er gar nicht. Die Bruttemperatur ist für den Coccus ungünstig; bei ihr wächst er schwach und bildet keinen Farbstoff.

Ein Erwärmen der Kulturen auf 52° C während 10 Minuten schadet dem Coccus nicht, denn er zeigt später ein ganz normales Wachstum. Werden aber die Kulturen bei 100° C 10 Minuten lang gehalten, so bleiben sie steril.

Auch ein Zusatz von 0,5 Proz. Karbolsäure wirkt hemmend auf die Entwicklung des Coccus.

Für Tiere, namentlich für weiße Mäuse, ist der Coccus pathogen; Mäuse sterben schon 4 Tage nach der Infektion.

Das Tageslicht hat keinen Einfluß auf das Wachstum und auf die Bildung des Farbstoffes bei dem Coccus.

Der gelbe Farbstoff ist im Wasser unlöslich, ebenso löst er sich nicht in Alkohol, Aether, Chloroform und Benzin. Kochendes Wasser zersetzt den Farbstoff. 10 Proz. Alkalien und Salzsäurelösungen verändern in der Kälte den Farbstoff nicht. Aber derselbe löst sich gut nach einigem Kochen in 10-proz. Kalilauge und fällt beim Ansäuern wieder aus.

Konzentrierte Schwefelsäure ruft schöne blaugrüne Zopfsche Lipochromreaktion hervor.

Diese gelben und wasserunlöslichen Farbstoffe erzeugen sehr wenige Bakterien; bis jetzt kannte man mit Sicherheit nur zwei solche Arten; *Micrococcus cereus flavus* und *Pseudomonas berolinensis*.

Ziemlich nahe meinem Coccus steht der von Freund isolierte *Micrococcus citreus granulatus*<sup>1)</sup>. Jedoch unterscheidet sich mein Coccus wesentlich von dem Freundschens *Micrococcus* durch folgende Merkmale:

Die Größe des *Micrococcus granulatus* beträgt nur 0,7—1  $\mu$ , die der meinigen ist fast doppelt so groß, 1,2—1,5  $\mu$ . Die Plattenkulturen sind bei dem ersten nicht scharf begrenzt und die inneren Kolonien farblos; bei dem meinigen sind dieselben scharf begrenzt und braun.

Auf schrägem Agar wächst der erste Coccus rasch und reichlich sowohl bei Zimmertemperatur wie bei Bruttemperatur; mein Coccus wächst langsamer, breitet sich nicht weit vom Impfstreiche aus und entwickelt sich bei 37,5° C schwach und farblos.

Ebenso ist das Wachstum auf Kartoffeln verschieden, der erste breitet sich über die ganze Oberfläche der Kartoffel aus, der meinige aber bleibt immer nahe der Impfstelle. Endlich ist der Farbstoff von *Micrococcus citreus granulatus* in Wasser löslich, von meinem aber unlöslich.

Alle diese Unterschiede sind groß genug, um diese beiden Kokken als zwei ganz besondere Arten zu betrachten.

Andere gelben Farbstoff erzeugende Kokken, wie z. B. *Micrococcus luteus* Schröder-Cohn, unterscheiden sich noch wesentlicher von dem meinigen.

Riga, den 20. April 1905.

1) Ein Beitrag zur Kenntnis chromogener Spaltpilze und ihr Vorkommen in der Mundhöhle. [Inaug.-Diss.] Erlangen 1893. p. 27. (Zitiert nach Migula, System d. Bakt. Bd. II. p. 148.)

## Versuche über Mucorineengärung II.

Von C. Wehmer.

### B. Versuche mit *Mucor javanicus*.

Hier wurden nacheinander 3 Versuchsreihen, jede von 3—4 Versuchen, gemacht, deren Resultat in der Hauptsache dem der mit *M. racemosus* erhaltenen entsprach: Luftzutritt hebt auch bei diesem *Mucor* die Alkoholbildung nicht auf. Zur Verwendung kam überall unverdünnte Brauereiwürze (15,5° Bllg.), Temperatur und anderes wie bei *M. racemosus*, Aussaat erbsengroßes Mycel aus Reinkultur.

### 1. Versuchsreihe. Aussaat 3. Februar 1905.

Versuch 1. Kolben mit einfachem Watteverschluß, Vol. ca. 300 ccm, Würzmenge 250 ccm.  
 " 2. " " Gärverschluß, Vol. ca. 600 ccm, Würzmenge 500 ccm.  
 " 3. " " } mit kontinuierlicher Luftdurchleitung, je 250 ccm Würze, Kolben-  
 " 4. " " } gröÙe 500 ccm.

Aussehen und Entwicklung waren sehr verschieden. Gärungserscheinungen waren ungemein lebhaft in No. 2, minder in No. 1, in No. 3 und 4 fehlten sie, von vereinzelt kleinen Gasblasen abgesehen, ganz. Die Pilzentwicklung fand in No. 3 und 4 als die ganze Flüssigkeit anfüllendes grauweißes Mycel, in No. 1 zur Hälfte als gelbliche, schleimig-fädige submerse Decke, halb als grauer Bodensatz, in No. 2 ganz vorzugsweise als allmählich von der Oberfläche herabsinkender reichlicher Bodensatz („Hefe“) statt.

Versuche 3 und 4 hatten übrigens mit Schwierigkeiten zu kämpfen und mißlangen zum Teil, die Pilzentwicklung war so lebhaft, daß zeitweise die Luftzuleitungsröhren verstopft wurden und selbst die starke Wasserstrahlpumpe versagte (s. Wiederholung der Versuche unter Versuchsreihe 3).

Beginn der Versuche gleichzeitig (3. Februar), Dauer 22—28 Tage.

Der Pilz wuchs und gor ungleich lebhafter als *M. racemosus*, trotzdem sein Optimum (über 30°) wesentlich über der Versuchstemperatur liegt. Im einzelnen ergab sich folgendes:

#### Versuch 1. Watteverschluß.

Aus dem submers rasch heranwachsenden Mycel bildet sich in Kürze eine ansehnliche dichte oberflächlich goldgelbe Decke, unter der sich fortgesetzt Gasblasen ansammeln; Sporangienträger mikroskopisch klein, kaum sichtbar; ein Teil des Mycels entwickelt sich als Bodensatz. Flüssigkeit wasserklar, mit vereinzelt flockigen Mycelien, späterhin gutenteils entfärbt (hellgelb). Nach 27 Tagen verarbeitet, Gärung anscheinend ziemlich beendet.

Resultat: Im Bodensatz Massen von großen sprossenden Kugeln, Mycel mit reichlichen Gemmen, mikroskopisch rein (keine Hefe oder Bakterien), Gesamtvolumen 250 ccm, Filtrat (235 ccm) wasserklar, von feinem angenehmen Geruch, blaues Lackmus schwach rötend.

Das Destillat hatte 0,99475 spezifisches Gewicht = 3,56 Vol.-Proz. Alkohol (2,85 g in 100 ccm); es war neutral, von alkoholischem Geruch.

Würzerückstand = 27,240 g, zersetzt sind also 16,61 g.

Pilzernte = 0,481 g Trockengewicht.

Hiernach entstanden in 27 Tagen aus 16,61 g zersetzter Würzsubstanz neben 0,481 g Pilztrockensubstanz 7,13 g Alkohol, an dessen Bildung sowohl Mycel wie Kugelhefe Anteil hatten.

### Versuch 2. Gärverschuß.

Einsaat rasch zu submerser gasentbindenden Mycel heranwachsend, das zunächst an die Oberfläche steigt, nach 4 Tagen starke Gärung unter Schäumen der Flüssigkeit, ein mehrere Tage andauernder Strom von Kohlensäurebläschen entweicht aus dem Gärverschuß, der nach 10 Tagen aber merklich schwächer geworden ist; der Pilz sammelt sich als pulverig-flockige Masse allmählich am Boden als grauer lockerer, fast 1 cm hoher Satz, von dem andauernd Gasblasen aufsteigen, an der schaumigen Oberfläche nur Reste schleimiger Mycelmassen. Flüssigkeit, von einzelnen Flocken abgesehen, wasserklar. Beim vorsichtigen Bewegen der Würze entweichen Massen von feinen Gasblasen aus derselben. Nach 3 Wochen steigen zwar noch dauernd Bläschen vom Bodensatz auf, aus dem Gärverschuß tritt aber nur in längerem Intervallen noch eine Gasblase aus. Die Hauptgärung ist offenbar vorüber, die früher braungelbe Flüssigkeit jetzt hellgelb (entfärbt). Nach 4 Wochen gesamte Pilzmasse am Boden, Gasentwicklung nur noch träge. Versuchsdauer 28 Tage (3. Februar bis 3. März).

Untersuchung: Der reichliche, flockige Bodensatz besteht fast ausschließlich aus Massen großer glasheller Kugelzellen isoliert oder in kleinen Sproßverbänden; nur vereinzelt langgestreckte Zellen oder Zellverbände solcher. Plasma feinkörnig, stets farblos, ohne Fetttropfen; keine Gemmen. Fremdorganismen (Hefen, Bakterien) fehlen.

Filtrat wasserklar, von angenehmem Geruch, hellgelb, lackmusrötend. Alkoholbestimmung<sup>1)</sup> ergab 5,44 Proz., Destillat neutral, rein alkoholisch riechend. Destillationsrückstand lackmusrötend.

Würzerückstand = 36,80 g (4,05 g aus 55 ccm berechnet).

(Pilzernte ging durch Unfall verloren.)

Ergebnis: In 28 Tagen entstanden 5,44 Proz. Alkohol, und zwar gutenteils unter Wirkung der Kugelhefe, in die allmählich fast das ganze Mycel übergeht; die Hauptgärung fällt in die 1. Woche.

### Versuch 3 und 4, mit kontinuierlicher Lüftung.

Die Einsaat entwickelt sich ungemein schnell zu einem die ganzen Flüssigkeiten ausfüllenden grauweißen Mycel, das auch die von Würze benetzten Gefäßwandungen oberhalb bekleidet (hier hellgoldgelb). Die bereits vorher angedeuteten Schwierigkeiten schlossen zeitweise eine regelmäßige Lüftung aus. Gegen Ende der Versuchsdauer entwickelt sich auch ein flockiger Bodensatz, der nach Ergebnis der späteren mikroskopischen Untersuchung aus großen glashellen, lebhaft sprossenden Kugelzellen besteht: ob infolge temporären Luftmangels, soll dahingestellt bleiben, anscheinend bildet *M. javanicus* gelegentlich ungleich leichter Kugelhefe, also auch wenn nicht gerade Sauerstoffmangel gegeben ist. Versuchsdauer 22 Tage.

Resultat: Die mikroskopische Untersuchung ergab völlige Reinheit von Hefe oder Bakterien, neben den schon genannten Kugelzellen normales Mycel mit Gemmen. Das klare Filtrat von hellgoldgelber Farbe

1) Hier ausnahmsweise mit nur 55 ccm der vergorenen Flüssigkeit nach Auffüllen auf das Doppelte. Spezifisches Gewicht des Destillats = 0,9960, entsprechend 2,72 Proz. Alkohol, verdoppelt 5,44 Proz.

(also merklich entfärbt), schwach obstartigem Duft und deutlich saurer Reaktion (blaues Lackmus sogleich rötend). Zur Verarbeitung kamen im ganzen nur 220 ccm (von beiden Versuchsnummern).

**Alkoholbestimmung:** Destillat hatte spezifisches Gewicht = 0,99075, entsprechend 6,60 Vol.-Proz. Alkohol (5,23 g in 100 ccm). Destillationsrückstand stark sauer.

[Pilzgewicht = 1,890 g Trockensubstanz. Unzersetzter Würze-Rückstand = 9,670 g, auf das Volumen von 500 ccm berechnet = 21,97 g.]

#### Resultat der 1. Versuchsreihe.

Als Resultat dieser Versuchsreihe ergibt sich kein wesentlicher Einfluß der besonderen Versuchsanstellung auf die Alkoholausbeute, wenigstens möchte ich die Differenzen nicht für irgendwelche Schlüsse nach dieser oder jener Seite hin verwerten:

- |                                      |                      |
|--------------------------------------|----------------------|
| 1. Bei Watteverschluß des Kolbens    | = 3,56 Proz. Alkohol |
| 2. „ Luftabschluß durch Gärverschluß | = 5,44 „ „           |
| 3. „ kontinuierlicher Lüftung        | = 6,60 „ „           |

Für uns genügt die Tatsache, daß eigentlich in jedem Falle reichlich Alkohol entsteht, Lüftung oder Luftabschluß da also von keinem entscheidenden Einfluß sind; die kleinere Zahl in Versuch 1 ist offenbar rein zufällig. Immerhin wurde eine weitere Versuchsreihe angesetzt, um auch den hier nicht glatt verlaufenen Versuch 3 + 4 zu ergänzen.

#### 2. Versuchsreihe. Aussaat 7. Februar 1905.

3 Versuche, gleichzeitig unter denselben Bedingungen. Der Kontrollversuch mit Luftversorgung in sehr niedriger Flüssigkeitsschicht (Doppelschale) bei großer Oberfläche.

Versuch 1. Kolben mit einfachem Watteverschluß, Kolbenvolumen 400 ccm, Würze 200 ccm.

„ 2. „ „ Gärverschluß, Volumen 400 ccm, Würze 200 ccm.

„ 3. Glasschale (Doppelschale) mit 0,5 ccm hoher Flüssigkeitsschicht, Würze 200 ccm.

Allgemeinbild in den Einzelfällen wiederum sehr verschieden. In No. 3 fehlt, wie früher bei *M. racemosus*, jede Gärungserscheinung; in No. 2 ist sie lebhaft, in No. 1 mäßig. Pilzentwicklung in No. 1 wie vorher als gelbliche Decke und grauer Bodensatz, in No. 2 vorzugsweise als Bodensatz, in No. 3 als dichte, die gesamte Flüssigkeit durchwachsende, oberflächlich, goldgelbe Mycelmasse mit spärlichen mikroskopischen Sporangienträgern. Verlauf im einzelnen wie folgt.

##### Versuch 1. Watteverschluß.

Verlauf wie früher unter denselben Bedingungen; die Aussaatflocke wächst zunächst zu einem gasdurchsetzten submersen Mycel heran, das sich dann in Decken- und Bodensatzvegetation teilt, erstere dabei merklich überwiegend. Spärlich mikroskopische Sporangienträger. Gasblasen unter der Decke wie vom Satz aufsteigend. Flüssigkeit wie früher, sonst wasserklar. Auch hier sind nach ca. 4 Wochen die Gärungserscheinungen sehr schwach geworden, die kräftige Decke mit goldgelber Oberseite. Versuchsdauer 7. Februar bis 11. März (34 Tage).

**Resultat:** Mikroskopisch rein (weder Hefen noch Bakterien), die gelben Hyphen der Deckenoberseite mit goldgelben Fetttropfen, reich an Gemmen; der Bodensatz besteht aus glashellen großen Kugelnzellen



mit Sproßbildung. Filtrat von feinem Ananas- bis obstartigem Geruch, blaues Lackmus rötend, wasserklar; spezifisches Gewicht des aufgefüllten Destillats = 0,9938 = 4,29 Vol.- Proz. Alkohol (3,40 g in 100 ccm). Destillationsrückstand lackmusrötend.

Würzerest = 15,23 g<sup>1)</sup>, zersetzt sind also weniger als 19 g.

Pilzgewicht: 0,632 g.

Hier entstanden in 34 Tagen, also aus etwas weniger als 19 g zersetzter Würzesubstanz neben 0,632 g Pilztrockengewicht ca. 6,8 g Alkohol.

**Versuch 2.** Kolben mit Gärverschluß (bei 200 ccm Luft-raum).

Bereits am 2. Tage nach der Aussaat entwickelt die voluminöse Mycelmasse stark Gas, das Blase auf Blase aus dem Gärverschluß entweicht; das zunächst entstandene schleimig-graue Mycelpolster an der Oberfläche sinkt successiv stückweis zu Boden, so daß nach ca. 2 Wochen die Hauptmasse des Pilzes als flockiger Satz (Kugelhefe) unten liegt, fortdauernd steigt Gas auf, an der Oberfläche kräftige Schaumblasen. Nach 3 Wochen hat die Gärung bereits merklich nachgelassen, es entweichen nur noch ab und zu Kohlensäureblasen aus dem Verschluß. Flüssigkeit bis Schluß wasserklar. Versuchsdauer 30 Tage (7. Februar bis 9. März).

Resultat: Mikroskopisch zeigt der Bodensatz ähnlich dem früheren Versuch mit Gärverschluß Massen von glashellen großen Kugelzellen in Sprossung, daneben auch lange Mycelstücke, teilweise in Kugelzellbildung begriffen, und langgestreckte schlauchförmige Zellen; keinerlei Fremdorganismen (Hefe, Bakterien), also mikroskopisch rein. Filtrat von angenehmem feinen Geruch, wasserklar, gelb, lackmusrötend. Spezifisches Gewicht des Destillats (neutral, von alkoholischem Geruch) = 0,9944 = 3,85 Proz. Alkohol (3,06 g in 100 ccm).

Würzerückstand: 19,717 g, zersetzt sind also 15,263 g.

Pilzgewicht: 0,285 g.

Es entstanden hier also in 30 Tagen aus ca. 15,263 g zersetzter Würze neben 0,285 g Pilztrockensubstanz rund 6,15 g Alkohol, teilweise durch die Kugelhefe.

**Versuch 3,** mit weiter Glasschale.

Große Doppelschale, Bodenschale 22,5 cm Durchmesser, 0,5 cm hoch mit Würze (200 ccm) gefüllt, das Ganze im Dampf sterilisiert. Mit ca. daumengroßem Mycel aus der gleichen Kultur wie Versuch 1 und 2 unter Vorsichtsmaßregeln beimpft und behutsam zerteilt.

Verlauf: Bereits am nächsten Tage stark gewachsen, nach 2 Tagen die gesamte Flüssigkeit von der gelblichen Mycelmasse ausgefüllt, keine Gasentwicklung, die auch bis Abschluß des Versuches fehlt. Nach 1 Woche auf der goldgelben, stets mit Flüssigkeit durchtränkten Mycelmasse mikroskopisch kleine Sporangienträger (kaum sichtbar), unter der Deckelschale hervor dringt ein feiner obstartiger Duft; das ganze ist eine fast kompakte, von Flüssigkeit durchtränkte Masse. Keinerlei Infektion. Nach 22 Tagen verarbeitet (1. März).

Resultat: Gesamtvolumen 175 ccm (also 25 ccm Wasser verdunstet), ohne Druck glatt abfiltrierte Lösung 150 ccm, mit flockiger Trübung, mikroskopisch rein, doch große sprossende Kugelzellen

---

1) Durch Springen der Schale bei Eindampfen auf Wasserbad fehlerhaft (zu klein).

(keinerlei Bakterien oder Hefe); von angenehmem Geruch, Reaktion: blaues Lackmus rötend.

Die zusammenhängende Mycelmasse (wie immer) auf Filter ausgewaschen, Waschwässer zum Destillationsrückstand.

Aufgefülltes Destillat (110 ccm zu 150 ccm) hatte spezifisches Gewicht = 0,9933 = 4,65 Vol.-Proz. Alkohol (3,69 g in 100 ccm) von alkoholisch-fuseligem Geruch.

Das Mycel bildet auf Filter eine zusammenhängende oberflächlich goldgelbe Haut.

Würzerückstand = 8,4 g, zersetzt sind also 26,88 g.

Pilzernte = 1,142 g.

In 22 Tagen wurden also aus 26,68 g zersetzter Würzesubstanz neben 1,142 g Pilzgewicht rund 7,38 g Alkohol gefunden.

### Resultat der 2. Versuchsreihe.

Die Versuchsreihe ergab also aus je 200 ccm Würze:

- 1) Bei Watteverschluß (34 Tage):  
4,29 Proz. Alkohol (6,8 g) und 0,632 g Pilzsubstanz aus 19 g zersetzter Würze;
- 2) bei Gärverschluß (30 Tage):  
3,85 Proz. Alkohol (6,112 g) und 0,285 g Pilzsubstanz aus 15,26 g 3zersetzter Würze;
- 3) bei niedriger Schicht in offener Schale (22 Tage):  
4,65 Proz. Alkohol (7,38 g) und 1,142 g Pilzsubstanz aus 26,680 g zersetzter Würze.

Auch hier ist also bei reichlichem Luftzutritt wiederum etwas mehr an Alkohol gefunden als bei behemmter Luftzufuhr; unter Berücksichtigung der Verdunstung erhöht sich die Zahl sogar noch um ein beträchtliches<sup>1)</sup>. Die Zuckerzersetzung war gleichzeitig weit intensiver, die erzeugte Pilzsubstanz ein vielfaches der bei Luftabschluß gebildeten.

### 3. Versuchsreihe. Aussaat 13. März.

5 Versuche mit *M. javanicus*, sämtlich bei reichlichem Luftzutritt. Gleiche Würze (unverdünnt) wie in Versuchsreihe 2. Festgestellt werden sollte hier insbesondere der Einfluß der Zeit auf die Alkoholansammlung, so daß also die 4 Versuche mit größeren Glaschalen in Intervallen nacheinander verarbeitet wurden. — Temperatur i. M. 14° (10—20°)<sup>2)</sup>, Aussaat aller Versuche gleichzeitig aus derselben Würzereinkultur (erbsengroße Flocke).

- Versuch 1 }  
 " 2 } je 100 ccm Würze, gläserne Doppelschalen von 12—25 cm Durchmesser  
 " 3 } deren Boden 0,1—0,4 cm hoch von der Würze bedeckt wird.  
 " 4 }  
 " 5 mit kontinuierlicher Luftdurchleitung im Kolben, 100 ccm Würze.

Der Verlauf entsprach im einzelnen dem der früheren Versuche unter gleichen Bedingungen. Ueberall rasche Mycelentwicklung in wenigen Tagen ohne Gärungserscheinungen. Die dünne Würzschicht der Schalen ist bereits 2 Tage nach der Aussaat dicht von Mycel durchsetzt, am 3.—4. Tage überall kleine Sporangienträger verstreut auf der Oberfläche. Wie früher feiner Geruch, Farbe des Mycels geht aus graugelblich nach einigen Tagen in goldgelb, später in ein bräunliches Gelb über.

1) Schätzt man die Alkoholverdunstung zu 2—3 Proz. ein, so würde hier die Gärung bei Luftzutritt nahezu das Doppelte an Alkohol geliefert haben.

2) Ueber Ursache der Temperaturschwankungen s. oben bei *M. racemosus*.

Die erste Schale wurde nach 7 Tagen verarbeitet, in bestimmten Intervallen darauf die übrigen. Es ergab sich, daß bereits 7 Tage nach Aussaat trotz nur 1—2 mm hoher Würzeschicht (den Boden der großen Schale kaum bedeckend) reichlich Alkohol vorhanden war.

**Versuch 1.** 7 Tage alt (Schalenweite 25 cm).

Am 20. März verarbeitet (7 Tage nach Aussaat, 4—5 Tage nach voller Mycelentwicklung). Filtrat der gelben zusammenhängenden Mycelmasse wasserklar, Lackmus sogleich rötend, von angenehmem Geruch. Gesamtvolumen (Würze + Mycelmasse) nur nach 90 ccm (Verdunstung!), 77 ccm ohne Mycel. Mikroskopisch rein (weder Hefe noch Bakterien), Hyphen mit reichlich goldgelben Oeltropfen, ohne Gemmen, Septen und Kugelzellen. Reichlich kleine Sporangienträger. Zur Destillation 77 ccm (Destillat 71 ccm). Spezifisches Gewicht des aufgefüllten Destillats = 0,9933 = 4,05 Proz. Alkohol (3,69 g in 100 ccm).

Pilzernte = 0,780 g.

Würzerückstand = 6,185 g<sup>1)</sup>, zersetzt wurden also annähernd 11,355 g.

Binnen 7 Tagen sind also aus 11,355 g zersetzter Würzesubstanz neben 0,780 g Pilzgewicht wenigstens 3,69 g Alkohol gebildet.

Der wirklich gefundene Alkohol entspricht in diesem wie in den nächsten Versuchen kaum dem überhaupt gebildeten — dieser muß unter Berücksichtigung der Verdunstung beträchtlicher sein (s. unten).

**Versuch 2.** 14 Tage alt (Schalendurchmesser 18 cm).

Am 27. März verarbeitet, also 7 Tage nach Versuch No. 1. Flüssigkeitshöhe anfänglich ca. 4 mm, am Schluß ca. 3 mm. Sehr voluminöses orangegelbes Mycel füllt auch hier zusammenhängend die ganze Würzeschicht aus. Geruch obstartig, an faule Äpfel erinnernd. Reaktion sauer, mikroskopisch rein (weder Hefen noch Bakterien), ganz vereinzelt einige Septen und Kugelzellen, sonst nur normales, an Fetttröpfchen reiches Mycel. Sehr große Fetttröpfchen zumal auf der Oberseite des Mycels, meist orangegelb.

Gesamtvolumen der Masse (inkl. Mycel) = 75 ccm, an Flüssigkeit im Trichter glatt ablaufend nur 52,5 ccm, davon abdestilliert 38 ccm; spez. Gew. des aufgefüllten Destillats [nach Verdoppelung<sup>2)</sup> durch Zufügung des gleichen Volumen Wassers] = 0,9973 = 1,82 Proz. Alkohol; also in 52,5 ccm = 3,64 Proz. Alkohol (2,88 g in 100 ccm). Destillationsrückstand stark sauer.

Unzersetzte Würze = 5,148 g, zersetzt sind also ungefähr 12,392 g.

Pilzgewicht = 0,812 g.

In 14 Tagen entstanden somit aus 12,392 g Würzebestandteilen neben 0,812 g Pilztrockensubstanz ca. 2,88 g Alkohol<sup>3)</sup>, d. h. der Alkoholgehalt der Würze vermindert sich in der 2. Woche merklich (verglichen mit Versuch 1).

**Versuch 3.** 24 Tage alt (Schalendurchmesser 22,5 cm).

Am 6. April verarbeitet, 10 Tage nach Versuch 2. Flüssigkeitshöhe

1) Mit kleinem unbestimmten Fehler (Verlust) behaftet.

2) Das Volumen von 38 ccm genügt nicht zur Bestimmung.

3) Unter der übrigens zutreffenden Annahme, daß mit dem verdunsteten Wasser wenigstens die gleiche Alkoholmenge (3,64 Proz.) verloren ging. Cf. dazu die Kontrollversuche weiter unten. — Schale No. 2 hatte abweichenden Deckel.

anfänglich 2 mm, am Schluß merklich niedriger. Aussehen des Mycels hat in den weiteren 10 Tagen keine Veränderungen erfahren. Voluminöse matt orangefarbige Mycelmasse, wie vorher die ganze Flüssigkeit ausfüllend, Geruch an faule Äpfel erinnernd. Reaktion: blaues Lackmus rötend, mikroskopisch rein, weder Hefe noch Bakterien, keine Kugelhefe, derbes Mycel ohne Septen, mit länglichen oder kugeligen Gemmen, kleinen und großen Oeltropfen, die zumal an Oberseite lebhaft orangefarben, im Mycel vereinzelt glasige Kugelzellen, doch ohne Sprossung.

Gesamt volumen (inkl. Mycel) = 77 ccm, Flüssigkeit (ohne Ausdrücken des Mycels auf Trichter glatt ablaufend) 66 ccm, die bei Destillation 55 ccm alkoholisches Destillat gaben (der bräunlich gelbe Destillationsrückstand von 11 ccm deutlich sauer). Aufgefülltes Destillat hatte spezifisches Gewicht = 0,9945 = 3,78 Proz. Alkohol oder 3 g in 100 ccm.

Würzerückstand = 2,547 g, zersetzt sind also ungefähr 14,993 g. Pilzgewicht = 0,700 g.

Nach 24 Tagen waren also 14,993 g Würzesubstanz zersetzt und neben 0,7 g Pilztrockensubstanz ca. 3 g Alkohol vorhanden. Trotz der auf das Doppelte verlängerten Versuchsdauer gegen Versuch 2 hat sich der Alkohol also nicht weiter vermindert.

#### **Versuch 4.** 51 Tage alt (Schalendurchmesser 19 cm).

Am 4. Mai verarbeitet also ca. 28 Tage nach Versuch 3. Höhe der Würzeschicht anfänglich 3—4 mm, beim Abschluß ca. 2 mm. Aussehen der dichten Mycelmasse bräunlich-gelb, zahlreiche kleine Sporangienträger (1—2 mm hoch), keinerlei Infektion. Geruch fast verschwunden, auch gegen vorher etwas verändert. Gesamtvolumen (mit Mycel) 65 ccm die im Trichter glatt ablaufende Flüssigkeit 47 ccm (Mycel also nicht ausgepreßt), von neutraler Reaktion und dunkler Färbung (hell schwärzlich-braun). Mikroskopisch rein mit vereinzelt Kugelzellen. Das Mycel von normalem Aussehen, mit gelben Fetttropfen, doch anscheinend spärlicher, auch gelbe Farbe etwas verblichen.

Die 47 ccm Filtrat wurden vor der Destillation auf 94 ccm gebracht und hiervon 74 ccm überdestilliert. Nach Wiederauffüllen ergab sich das spezifische Gewicht = 0,9987, entsprechend 0,87 Vol.-Proz. Alkohol (0,59 g in 100 ccm); der Alkoholgehalt des Filtrats war also 1,74 Proz. Destillationsrückstand rötet Lackmus.

Würzerest = 2,190 g.

Pilzgewicht = 0,790 g.

Innerhalb 51 Tagen wurden also 15,350 g Würzesubstanz zersetzt und 0,790 g Pilzgewicht erzeugt, der Alkoholgehalt sank auf 1,74 Proz., der Flüssigkeitsrest enthält also kaum noch 0,4 g.

#### **Versuch 5.** Lüftung durch kontinuierlichen Luftstrom.

Versuchsdauer 10 Tage (15. März bis 25. März). Dieser Versuch funktionierte tadellos, der lebhafte Luftstrom (ca. 150 Blasen in 1 Minute) ging ohne Unterbrechung. 3 Tage nach Aussat große Mycelien, nach 5 Tagen die ganze Flüssigkeit davon erfüllt, schließlich ist eine graugelbe dichte Masse von Mycel vorhanden, die das ganze Gefäß gleichmäßig anfüllt; keinerlei Deckenbildung, Gärungserscheinungen nicht wahrnehmbar, nur vereinzelt kleine Bläschen im Mycel.

Resultat: Mikroskopisch rein (keine Hefe oder Bakterien), Mycel überall mit Fetttropfchen, teils orangegelb, vereinzelt Gemmen, auch Septen-

bildung und Kugelhefe (als flockige Trübe zwischen den Hyphen). Reaktion: Lackmus sogleich rötend, Geruch angenehm, wie sonst. Filtrat wasserklar 70 ccm (Gesamtvolumen 90 ccm — Verlust durch Verdunstung also 10 ccm).

Spezifisches Gewicht des Destillats 0,9948 entsprechend = 3,56 Proz. Alkohol (2,82 g in 100 ccm). Destillationsrückstand blaues Lackmus sogleich hellrot färbend.

Pilzgewicht: 0,775 g.

Würzerückstand: 4,083 g.

Unter Verbrauch von 13,457 g Würzebestandteile (76,72 Proz.) sind hier also in 10 Tagen durch 0,775 g Pilztrockensubstanz 3,56 Proz. Alkohol (= 2,538 g) erzeugt. — Auch hier ist voraussichtlich mit einem Alkoholverlust durch Verdunstung zu rechnen.

### Resultate von Versuch 1—5 der 3. Versuchsreihe.

Die Versuche zeigen zunächst eindeutig, daß reichlicher Luftzutritt die Alkoholbildung nicht beeinträchtigt; es ergaben sich aus je 100 ccm Würze:

In den Schalen- vers. 1-4 Lüftungsversuch: (No. 5)	Nach 7 Tagen = 4,65 Proz. Alkohol aus 11,355 g Zucker neben 0,780 g Pilzsubstanz
	„ 14 „ = 3,04 „ „ „ 12,392 „ „ „ 0,812 „ „
	„ 24 „ = 3,78 „ „ „ 14,993 „ „ „ 0,700 „ „
	„ 51 „ = 1,74 „ „ „ 15,350 „ „ „ 0,790 „ „

Nach 10 Tagen = 3,56 Proz. Alkohol aus 13,457 g Zucker neben 0,775 g Pilzsubstanz.

Gleichzeitig ergibt sich bemerkenswerterweise, daß die höchst erreichbare Alkoholmenge hier bereits nach relativ kurzer Kulturdauer vorhanden ist (7 Tage nach Aussaat), eine erhebliche Abnahme aber erst nach wochenlanger Berührung des Pilzes mit der Flüssigkeit stattfindet. Immerhin sinkt der Alkoholgehalt um ca. 3 Proz., um aber diese Tatsache richtig einzuschätzen, müssen mir unbedingt den Einfluß der Verdunstung kennen, den ich durch einige Kontrollversuche wenigstens annähernd zu bestimmen versuchte.

### Kontrollversuche.

Dieselben Schalen, wie sie zu den Kulturversuchen gedient, wurden mit je 100 ccm eines verdünnten Alkohols<sup>1)</sup> einem mehrwöchigen Verfolg unterworfen, also in Intervallen von ca. 1 Woche das nunmehrige Volumen und spezifische Gewicht ermittelt. Der durch Mischen mit destilliertem Wasser hergestellte Alkohol zeigte bei Beginn das spezifische Gewicht 0,9875. Ich gebe hier nur die Bestimmungen mit den beiden Doppelschalen 1 und 3 wieder<sup>2)</sup>.

1) Glasschale 1.

a) Bei Beginn = 100 ccm Flüssigkeit von spez. Gew. = 0,9875 (= 9,23 Proz. Alkohol)
b) nach 8 Tg. = 90 „ „ „ „ „ = 0,9905 (= 6,79 „ „ )
c) „ 14 „ = 87,5 „ „ „ „ „ = 0,9916 (= 5,93 „ „ )
d) „ 22 „ = 80 „ „ „ „ „ = 0,9936 (= 4,43 „ „ )
e) „ 31 „ = 75 „ „ „ „ „ = 0,9955 (= 3,07 „ „ )
f) „ 38 „ = 70 „ „ „ „ „ = 0,9973 (= 1,82 „ „ )

1) Gleiches Verhalten mit der myceldurchsetzten Würze wird hier also — wohl ohne großen Fehler — vorausgesetzt.

2) Schale 2 hatte infolge abweichenden Deckels ungleich stärkeren Verlust; hier waren nach 14 Tagen noch 2,15 Proz. Alkohol (Volumen 72,5 ccm), nach 38 Tagen aber nur noch 0,13 Proz. (bei 39 ccm Vol.) vorhanden. Cf. auch den Gärversuch in Schale No. 2.



## 2) Glasschale 3.

a) Bei Beginn	=	100 ccm	Flüssigkeit	von spez. Gew.	=	0,9875	(= 9,23 Proz. Alkohol)
b) nach 14 Tg.	=	87,5 "	"	"	"	0,9919	(= 5,70 " " )
c) " 22 "	=	78 "	"	"	"	0,9942	(= 4,00 " " )
d) " 31 "	=	72 "	"	"	"	0,9967	(= 2,23 " " )
e) " 38 "	=	67 "	"	"	"	0,9980	(= 1,34 " " )

Der wöchentliche Verlust an Alkohol in unseren Kulturschalen ist hiernach sehr erheblich, nach 2 Wochen beläuft er sich bereits auf mehr als 3 Proz. und nach 3 Wochen ist er auf rund 5 Proz. gestiegen, der Alkohol in der Wassermischung hat sich in dieser Zeit auf weniger als die Hälfte vermindert. Nach ca. 5 Wochen beträgt der Versuch sogar 7—8 Proz.

Nehmen wir auch nur eine wöchentliche Verdunstung von 1 Proz. Alkohol für unsere oben mitgeteilten Schalenversuche 1 bis 4 an — es handelt sich lediglich um eine annähernde Einschätzung — so kommen wir dadurch allerdings zu einer ganz anderen Bewertung dieser Versuche.

Wir müssen offenbar annehmen, daß hier weit mehr Alkohol erzeugt ist als unsere Zahlen angeben. Wenn diese trotzdem in den ersten 4 Wochen keine erhebliche Verminderung erfahren, so kann das nur durch andauernde Neubildung ausgeglichen sein, damit stimmt dann auch die fortgesetzte Abnahme der Würzesubstanz überein. Erst nach Erschöpfung des gärfähigen Materials fällt der Verdunstungseinfluß ins Gewicht und die Alkoholzahl sinkt nach 51 Tagen auf 1,74 Proz. (Versuch 4). Andererseits ermöglicht offenbar auch nur die Verdunstung des Alkohols den fast völligen Konsum der Würzebestandteile, wie ihn die Kulturen in den Doppelschalen zeigen.

Bei der unstreitig etwas komplizierten Sachlage ist schwer zu sagen, ob auch der Pilz selbst sich durch Zerstörung an der Alkoholabnahme beteiligt, die Tatsachen sprechen nicht gerade dafür. Immerhin bleibt das ja möglich, jedenfalls kann die Wirkung dann aber nur eine sehr schwache sein, denn zur Erklärung des Beobachteten reicht der Verdunstungsverlust allein aus.

Mit einem Alkoholverlust haben wir voraussichtlich auch in Kolbenversuchen zu rechnen, zumal da, wo faktische Verminderung der Flüssigkeit ausdrücklich konstatiert wurde. Eine solche hatte auch in den eingangs mitgeteilten Versuchen über die Zersetzbarkeit von Alkohol durch unsere Pilze statt (ca. 3—20 ccm in 50—89 Tagen) und es scheint mir nach den Resultaten der letzten Versuchsreihe wahrscheinlicher, daß der dort konstatierte Alkoholverlust von wenig über 1 Proz. auf Rechnung der Verdunstung zu setzen ist.

#### Zusammenfassung der Resultate für *M. javanicus*.

*M. javanicus* wirkt nach allem ungleich energischer als *M. racemosus*; bereits weit unter seinem wesentlich höher liegenden Optimum erregt er lebhaftere Gärungserscheinungen als dieser und erzeugt in gleicher Zeit ungefähr das Doppelte an Alkohol, auch greift er die konzentrierte Würze von 15—16° Balling ohne Schwierigkeiten an und zersetzt unter günstigen Umständen die Würzebestandteile bis auf wenige Prozent. Die Alkoholgrenze liegt bei ungefähr 5 Proz., vereinzelt wird bis über 6 Proz., gewöhnlich aber etwas weniger (4—5 Proz.) erhalten, alles gültig für Würze bei Temperaturen unter 20°. Bei der Zuckerzersetzung entstehen außerdem geringe Mengen von nichtflüchtiger Säure.

Die Alkoholgärung ist auch hiernicht Folge von Luftmangel, vielmehr findet sie gerade so gut bei vollem Luftzutritt statt und liefert hier mindestens die gleichen Alkoholzahlen; aus der in diesem Falle fehlenden sichtbaren Gasentbindung ergibt sich also nichts für die Alkoholentstehung. Für diese ist es auch ganz gleich, ob der Pilz als Mycel oder als Kugelhefe wächst, letztere bildet sich bei dieser Art immerhin ungleich leichter und reichlicher als bei *M. racemosus*, so daß bei andauerndem Luftabschluß die gesamte Vegetation in sprossende Kugelzellen zerfallen kann. Selbst bei Luftzutritt scheint gelegentlich partieller Zerfall der Hyphen stattzufinden.

Der entstandene Alkohol wird auch bei Gegenwart von Sauerstoff allem Anschein nach kaum von dem Pilz angegriffen, es ergibt sich vielmehr aus der letzten Versuchsreihe 3 mit ziemlicher Sicherheit, daß er unter solchen Umständen ebensowenig wie der dem Pilz gebotene Zucker ohne weiteres zu Kohlensäure und Wasser verbrannt wird, sondern gegen weitere Veränderung außerordentlich resistent ist; Mycelien solch beträchtlicher Größe müßten sonst rasche Abnahme bewirken. In dieser Unfähigkeit des Pilzes zur Weiteroxydation des abgespaltenen Alkohols liegt offenbar das für die schnelle Ansammlung in jungen Kulturen anstoßgebende Moment. Wo in älteren Gärversuchen oder Kulturen ein Zurückgehen des Alkoholgehalts beobachtet wird, ist es allem Anschein nach auf Rechnung der Verdunstung zu setzen und in diesem Sinne möchte ich nach allem nunmehr auch die früher mitgeteilten Versuche über Zersetzung des Alkohols deuten, deren endgültige Auslegung ich damals noch offen ließ; neue Experimente neben Kontrollversuchen wären da zwecks Erhärtung jedenfalls am Platze.

Behinderung des Luftzutritts hemmt in erster Linie das Wachstum des Pilzes (die erzeugte Trockensubstanz sinkt auf einen Bruchteil), minder die Zuckerzersetzung, am wenigsten noch die Alkoholentstehung; das war im allgemeinen so vorauszusehen, die Zahlen sind trotzdem von einigem Interesse. Ein Mehr an Alkohol entsteht bei Luftabschluß jedoch nicht, nur bezogen auf Pilzsubstanz — also relativ — ist seine Menge größer, es wird weniger Zucker zersetzt, ein relativ (nicht absolut) größerer Teil desselben wird in Alkohol umgesetzt. Allerdings leistet die kleine Pilzmenge, was Alkoholbildung betrifft, schließlich ungefähr das Gleiche wie das Multiplum bei Luftzutritt, doch liegt kein Grund vor, deshalb die Gärung als intensiver zu bezeichnen, da lediglich das Wachstum geringer ist, die größere Pilzmasse außerdem unter solchen Umständen überhaupt nicht mehr Alkohol als die Grenzzahl ansammeln kann. Daß bei Luftzutritt und gutem Wachstum aber geradezu schnellere und reichlichere Alkoholbildung erfolgt, wird durch den Ausfall der Schalenversuche direkt nahegelegt, behinderter Luftzutritt scheint die Alkoholansammlung vielmehr zu verzögern. Es ist offenbar nichts so täuschend als die lebhaften Gärungserscheinungen bei Luftabschluß, sie sind — um mich einmal dieses Ausdrucks zu bedienen — direkt eine „Vorspiegelung falscher Tatsachen“. Alle Umstände, die einen allmählichen Gasaustausch zwischen Flüssigkeit und Luft erschweren also zu einer raschen Sättigung ersterer führen, müssen im Sinne solcher sichtbaren Gasentbindung wirken; lediglich die Begünstigung des Kohlensäureentweichens durch die Art der Versuchsanordnung läßt in den Schalenversuchen wie in den Lüftungsexperimenten keine Gärungserscheinungen wahrnehmen.

Pilzsubstanz, Zuckerzersetzung und Alkoholprocente stellen sich wie folgt, erstere in 1—7 gleichfalls auf 100 ccm Würze berechnet:

	Pilzgewicht	Alkohol	Zersetzter Zucker (Proz. u. g der Würze- substanz)	Versuchs- dauer
1) Bei Absperren der Luft (200 ccm Würze)	0,1425 (0,285) <sup>1)</sup>	3,85 Proz.	43,51 Proz. (7,632 g)	30 Tage
2) dto. (500 ccm)	—	5,44 „	58,15 Proz. (10,38 g)	28 „
3) Unter Watteverschluß (220 ccm)	0,316 (0,632) <sup>1)</sup>	4,29 „	56,6 Proz. (9,98 g)	34 „
4) dto. (250 ccm)	0,1924 (0,481) <sup>1)</sup>	3,56 „	38,3 Proz. (6,64 g)	27 „
5) Bei kontinuierlicher Lüftung (220 ccm)	—	6,60 „	74,94 Proz. (13,14 g)	22 „
6) dto. (100 ccm)	0,775	3,56 „	76,72 Proz. (13,457 g)	10 „
7) In weiter offener Schale (200 ccm)	0,571 (1,142) <sup>1)</sup>	4,65 „	76,05 Proz. (13,34 g)	22 „
8) dto. (100 ccm)	0,780	4,65 „	64,73 Proz. (11,355 g)	7 „
9) dto. (100 ccm)	0,812	3,64 „	70,65 Proz. (12,392 g)	14 „
10) dto. (100 ccm)	0,700	3,78 „	85,48 Proz. (14,993 g)	24 „
11) dto. (100 ccm)	0,790	1,74 „	87,57 Proz. (15,350 g)	51 „

Parallelvers.

Die Zahlen lassen eine gewisse Regelmäßigkeit nicht verkennen, einzelne fallen bei derartigen Experimenten natürlich immer aus. Einige beachtenswerte Punkte seien kurz hervorgehoben.

Von den Würzebestandteilen wurden während der Versuchsdauer nur bei reichlichem Luftzutritt mehr als 50 Proz. verbraucht, und das bereits innerhalb der ersten Woche, also parallel mit der zu gleicher Zeit verlaufenden Alkoholansammlung; im Laufe der beiden nächsten Wochen steigt der Verbrauch auf 70—85 Proz., nach 24 Tagen betrug er rund 85 Proz., um schließlich 87,57 Proz. auszumachen (51 Tage); eine Alkoholansammlung von 4—5 Proz. wirkt unter diesen Umständen auf die Tätigkeit des Pilzes also nicht sonderlich störend, wie man das nach den früheren Feststellungen etwa hätte erwarten sollen. Bei ungenügender Sauerstoffversorgung dagegen hob sich der Zuckerverbrauch nur in 2 Fällen auf 56—58 Proz. und zwar erst nach 4—5 Wochen, in den beiden anderen Fällen blieb er hier zwischen 38 und 43 Proz. (27—30 Tage).

Bei ungestörter Luftzufuhr hebt sich das Pilzgewicht auf ein vielfaches, das Maximum wird auch da bereits nach 7—14 Tagen erreicht. Die in 100 ccm derselben Würze erzielte Pilzvegetation wog:

Nach 7 Tagen	0,788 g
„ 10 „	0,775 „
„ 14 „	0,812 „
„ 24 „	0,700 „
„ 51 „	0,790 „

Das mögliche Maximum an Pilztrockensubstanz aus 100 ccm Würze bei reichlicher Versorgung mit Sauerstoff liegt also bei ca. 0,8 g, bei ungenügendem Luftwechsel (Kolben mit Watteverschluß) wird — wie No. 3 und 4 der Tabelle zeigen — diese Zahl jedoch selbst aus der doppelten Würzemenge bei weitem nicht erreicht<sup>2)</sup>. Da 100 ccm Würze ca. 17,54 g fester Substanz, von denen der Pilz über 15 g verbrauchen

1) Die eingeklammerten Zahlen sind die für das größere Volumen wirklich gefundenen.

2) Die heute übliche Art der Pilzzucht am Boden geschlossener Gefäße hat sicher ihre Bedenken und ist keineswegs ideal, wenn auch schwer durch Besseres zu ersetzen.

kann, enthalten, so wäre die Nutzung derselben immerhin nur mäßig (ca. 6 Proz.) für ein so gutes Substrat sogar auffallend gering, denn der „Nutzungswert“ von Zucker für *Aspergillus niger* z. B. kann nach meinen früheren Bestimmungen <sup>1)</sup> auf 28 Proz., für *Penicillium glaucum* auf über 20 Proz. steigen, fällt unter minder günstigen Bedingungen aber kaum unter 10 Proz. <sup>2)</sup>. Erst wenn wir die für Alkoholbildung in Anspruch genommene Menge (mindestens 7,4 g für 3,7 g gefundenen Alkohol) vorweg abziehen, kommen wir bei *M. javanicus* auf  $\pm 10$  Proz. Die Entstehung von Alkohol drückt den Nutzungswert des Substrats stark herab, und zwar direkt durch Zuckerverbrauch, wohl nicht infolge direkter Hemmung.

Auch bei *M. racemosus* lag dies Verhältnis schon etwas günstiger, die Würze wurde allerdings verdünnt angewandt. Hier lieferten 13,76 g Würzetrockensubstanz (in 200 ccm)

1) Unter Watteverschluß . . . . . 0,456 g Pilzgewicht

2) bei Lüftung . . . . . 0,708 „

3) in flacher Schale (reichliche Sporangienbildung!) 1,200 „ bez. 1,320 g Pilzgewicht

bei abgesperrtem Sauerstoff war hier allerdings die erzeugte Pilzsubstanz noch geringer als bei *M. javanicus* (0,172 g gegen 0,285 g bei diesem), ihr geringeres Gärvermögen macht die Art sauerstoffbedürftiger, andauernder Luftabschluß hemmt alsbald die Neubildung.

Die Morphologie des *M. javanicus* habe ich bereits bei früherer Gelegenheit <sup>3)</sup> ausführlicher behandelt, anhangsweise will ich kurz auf die Eigentümlichkeit auch dieser Art, zweierlei Sporangienträger zu erzeugen, hinweisen. Ähnlich wie bei *M. racemosus* beobachtet man je nach den Bedingungen ganz verschiedene Sporangienvegetationen: Kaum auffällige, wenig über 1 mm hohe oder üppige 2—4 cm hohe, beide so verschieden voneinander, daß sie zwei verschiedenen Pilzen angehören könnten, doch sind sie ohne weiteres durch neue Aussaat ineinander überführbar. Auf allen Doppelschalen wie in den gärenden Kolbenversuchen (nur Luftabschluß hat Sterilität zur Folge) erschienen nur die zwergigen Träger, teils so spärlich, daß sie leicht übersehen werden und erst in dichteren Räschen durch leicht bräunliche Farbe hervortreten. Aussaat auf Würzeagar unter Wattepfropf (Reagenzglas) ergibt hieraus ohne weiteres einen Wald von 2—2 cm hohen Trägern, wie ich ihn auch früher <sup>4)</sup> auf Agar, Gelatine, Reis und anderem stets beobachtete. Es scheint hier die physikalische Beschaffenheit des Substrats, vielleicht auch der Feuchtigkeitsgehalt der Atmosphäre das Ausschlaggebende, denn Abimpfen auf Würze liefert wieder die Zwergform. Weitere Einzelheiten liegen außerhalb des Planes dieser Arbeit; auch *M. Mucedo* zeigt übrigens diesen „Dimorphismus“, hier tritt er aber innerhalb derselben Kultur auf, hängt also nicht von den Außenbedingungen ab <sup>2)</sup>; morphologisch scheinen die *Mucor*-Arten also noch mancherlei ihre Unterscheidung Erschwerendes zu bieten, dessen näherer Verfolg angezeigt ist.

1) Einheimische Pilze II. 1895. p. 138—140.

2) Oekonomischer Koeffizient Pfeffers (1895).

3) Dieses Centralbl. Bd. VI. 1900. p. 612.

4) Die zwergigen Träger sind hier sogar verzweigt, eine Tatsache, die früher auch schon von Vuillemin hervorgehoben, bislang aber sonst wohl übersehen ist.

*Nachdruck verboten.*

## Experimentelle Untersuchungen über Sterilisierung der Milch mit Wasserstoffsuperoxyd, unter spezieller Berücksichtigung des von Budde angegebenen Verfahrens.

[Aus der bakteriol. Abteilung des Hygiene-Institutes der Universität Zürich. Abteilungsvorstand: Privatdozent Dr. W. Silberschmidt.]

Von Mstislaw Lukin, Moskau.

Die im Jahre 1903 erschienene Arbeit von G. Budde: „Ein neues Verfahren zur Sterilisierung der Milch“ (27) erweckte lebhaftestes Interesse für diese Frage.

Alle zur Zeit existierenden Methoden der Sterilisation und Konservierung der Milch werden von den meisten kompetenten Forschern als nicht zweckentsprechend bezeichnet; sie sind entweder unzureichend oder aber sie wirken ungünstig auf die Zusammensetzung und die Eigenschaften der Milch ein. Budde schlägt ein neues Verfahren zur Sterilisation der Milch durch  $H_2O_2$  vor, wonach letzteres, in einer minimalen Dose der auf  $52^\circ$  erhitzten Milch beigemengt, angeblich alle in ihr sich befindenden Bakterien, ja sogar die widerstandsfähigsten, töte, wobei jedoch die Zusammensetzung sowohl wie die Eigenschaften der rohen Milch unverändert bleiben sollen. Die vom Verf. erzielten Resultate waren glänzend. Es kann deshalb nicht wunder nehmen, daß in der letzten Zeit die Versuche Buddes von verschiedenen Autoren nachgeprüft wurden; denn die ungeheuer wichtige Rolle, welche die Milch in der Ernährung der Bevölkerung, insbesondere der Kinder, spielt, gab genügenden Anlaß zur allseitigen Untersuchung dieser Frage.

Da die Resultate der neuesten Untersuchungen sehr verschiedenartig, einander widersprechend, ja zum größten Teil negativ ausgefallen sind, unternahm ich, auf Anregung meines verehrten Lehrers, Herrn Privatdozenten Dr. Silberschmidt, eine Reihe von Versuchen zur Aufklärung der vorliegenden Frage. Es wurde das von Budde angegebene Verfahren nachgeprüft, daneben aber die desinfizierende Wirkung des  $H_2O_2$  auf Milch ohne gleichzeitige Erwärmung ebenfalls untersucht.

Bevor ich zur Schilderung der eigenen Versuche übergehe, sei mir gestattet, eine kurze Uebersicht der Literatur über die uns interessierende Frage vorzubringen.

Erst vor kurzer Zeit erschienen die sehr interessanten Untersuchungen von Bie (33) über desinfizierende Wirkung des  $H_2O_2$ . Aus denselben geht hervor, daß dieser Stoff sehr starke bakterizide Eigenschaften besitzt; so sind z. B. 0,00042 g  $H_2O_2$  resp. in Gewichtsprozent 0,021 Proz. im stande, eine Bouillonkultur, welche ca. 50 Millionen Bakterien pro Kubikcentimeter enthält, bei Bruttemperatur steril zu machen; 0,0042 Proz. war aber ungenügend zur Sterilisierung derselben. 1000 Bakterien sollen also nach Bie von 0,00000000168 bis 0,0000000084 g oder ungefähr  $\frac{1}{700000} - \frac{1}{125000}$  Milligramm  $H_2O_2$  getötet worden.

Bie wies weiter nach, daß die Bakterien zur Abtötung Wasserstoffsuperoxyd verbrauchen, und daß die Desinfektionsfähigkeit daher von der Anzahl der Bakterien abhängt. In den Gläsern, in welchen keine

Bakterien waren, wurde der  $H_2O_2$ -Gehalt bei 12-stündigem Stehen nur wenig verringert, in den Bakterien enthaltenden Gläsern nahm dagegen das  $H_2O_2$  stark ab. In den Versuchen Bies ging die kräftige bakterizide Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds daraus hervor, daß verhältnismäßig unbedeutende Mengen im stande waren, die ungeheure Zahl Bakterien zu töten, welche zur Trübung von 10 resp. 5 ccm Wasser erforderlich ist.

Die bakterizide Wirkung des  $H_2O_2$  beruht auf der Tatsache, daß es in  $H_2O$  und  $O$  zerlegt wird; das in statu nascendi frei werdende  $O$  verhält sich dabei als wirkendes Moment. Die Eigenschaft, das  $H_2O_2$  zu spalten, kommt, wie viele Untersuchungen zeigten, sehr verschiedenen Substanzen zu. Gottstein (1) fand diese Eigenschaft überhaupt bei allen lebenden tierischen und pflanzlichen Zellen, unter welchen sich durch besondere Intensität der Spaltung die Hefezellen, das Blut und die Eiterkörperchen auszeichnen, ferner eine Reihe den Zellen entstammender, zu den Eiweißkörpern gehöriger Stoffe, wie das Fibrinogen (Hammarsten), Fibrin und andere.

Bert und Regnard (18) konstatierten, daß nicht nur Fibrin, sondern auch defibriniertes Blut, ebenso Bindegewebe und frische pleuritische Exsudatflüssigkeit Sauerstoff aus Wasserstoffsuperoxyd frei machen, während Hühnereiweiß, Kasein, Globulin, Eidotter, Fette, Pepsin, Speichel, Peptone, Zucker, Amylum diese Eigenschaft nicht besaßen.

Das Hämoglobin besitzt nach Bergengrün (14) gar keine katalytische Kraft, die höchste dagegen das Stroma der roten Blutkörperchen, sowie die Hefezellen; eine etwas geringere die weißen Blutzellen und die Milchzellen.

Aus den Untersuchungen von Gottstein (1) ersieht man weiter, daß die Fähigkeit der Zellen,  $H_2O_2$  zu spalten, nicht an das Leben derselben gebunden ist. Dieselbe Fähigkeit des Protoplasmas wird durch Erhitzung auf  $70^\circ C$  und höhere Temperaturen vernichtet, während trockene Fermente durch diese Wärmegrade ihre chemischen Eigenschaften noch nicht verlieren. Die Fähigkeit der Zelle,  $H_2O_2$  zu zerlegen, ist nach Gottstein auf das in derselben enthaltene Nuklein zurückzuführen. Die Mikroorganismen bewirken auch energische Spaltung des Wasserstoffsuperoxyds.

Die Methode von Budde (27) beruht nach Angabe des Verf. auf der Tatsache, daß „in der Entstehung begriffene Säure bei einer Temperatur von nicht unter  $40^\circ C$  absolut tödlich wirkt auf alle in der Milch und sonstigen Nahrungsmitteln vorkommenden Bakterien und Sporen, ja auch auf die am meisten widerstandsfähigen Zellen, z. B. Sporen von *Bacillus subtilis* und andere, welche im Wasser befindlich, das Aufkochen desselben vertragen“.

„Bekanntlich,“ fährt Verf. fort, „übt im Entstehen begriffene Säure eine intensivere chemische Einwirkung aus als freie Säure, was wahrscheinlich dadurch zu erklären ist, daß im ersteren Falle die Säure in freien Atomen auftritt.“ — „Es hat sich erwiesen, daß die meisten Mikroorganismen der erwähnten Einwirkung gegenüber bei gewöhnlicher Temperatur und bei Temperatur bis auf  $40^\circ C$  heran standhaft bleiben, wenn sie auch dabei in ihrer Entwicklung auf kurze Zeit gelähmt werden, daß jedoch keiner dieser Mikroorganismen der erwähnten Einwirkung bei einer Temperatur von  $40^\circ C$  und darüber Widerstand zu leisten vermag. Die einfachste Weise, Milch oder andere Nahrungsmittel der Einwirkung sich bildender Säure auszusetzen, besteht darin

diese Produkte in Berührung mit  $H_2O_2$  zu bringen. Es befinden sich nämlich in den Nahrungsmitteln gewisse organische Stoffe (Enzym, Fibrin u. s. w.), welche im stande sind,  $H_2O_2$  in Säure und Wasser zu zerlegen, ohne sich selbst zu verändern.“

Das  $H_2O_2$  besitzt noch eine wertvolle Eigenschaft, die Toxine zu zerstören, ohne dabei die Tätigkeit der Antitoxine zu vermindern. Sieber (3) hat nachgewiesen, daß durch 0,5 ccm 2-proz.  $H_2O_2$ -Lösung, also 0,01 g  $H_2O_2$  10—100-fach tödliche Abrindosen in 10—15 Minuten, vom Diphtherie- und Tetanotoxin sogar 600-fach tödliche Dosen nach wenigen Stunden entgiftet wurden.

E. Löwenstein (16) führt an: „Im Verlaufe meiner Untersuchung über ungiftige Modifikationen des Diphtherie- und Tetanotoxins konnte die schöne Entdeckung von Sieber, daß  $H_2O_2$  im stande ist, außerordentlich große Dosen von Diphtherie- und Tetanotoxin unwirksam zu machen, in vollem Umfange bestätigt werden. Die Entgiftungsweise durch das Antitoxin ist eine völlig andere als die durch  $H_2O_2$ ; durch letzteres wird das Gift völlig zerstört. Das Antitoxin kann aus dem neutralen Gemisch Toxin-Antitoxin durch  $H_2O_2$  wieder frei gemacht werden.“

Es ist bekannt, daß auch die energische bakterizide Wirkung des Sonnenlichtes auf der Bildung von  $H_2O_2$  beruht. So teilt z. B. Richardson in einer im Jahre 1893 erschienenen Arbeit die Beobachtung mit, daß in frischem Urin, welcher dem Sonnenlicht und der Luft ausgesetzt war, regelmäßig  $H_2O_2$  entstehe. Die Bakterien waren in dem belichteten Urin sämtlich abgetötet; ja derselbe zeigte sogar antiseptische Wirkung, wenn er einem in Zersetzung begriffenen Urin im Dunkeln zugesetzt wurde.

Dieudonné (7) glaubt, daß die Bildung von Wasserstoffsuperoxyd durch Luft und Licht ein nicht unwesentlicher Faktor für die keimtötende Fähigkeit des Lichtes zu sein scheint. Die Selbstreinigung der Flüsse, welche nach den Untersuchungen Buchners zum großen Teil der Wirkung des Lichtes zuzuschreiben ist, dürfte in der Beobachtung, daß auch im Wasser unter dem Einfluß des Lichtes  $H_2O_2$  gebildet wird, eine wenigstens teilweise befriedigende Erklärung finden.

Aus den neuesten Untersuchungen von Bie (34) geht hervor, daß durch Anwendung von Sonnenlicht oder von genügend kräftigem konzentriertem elektrischen Licht  $H_2O_2$  in der Bouillon in so bedeutender Menge entwickelt wird, daß auch Bakterien, welche in die belichtete Flüssigkeit gesät werden, zu Grunde gehen. Wasserstoffsuperoxyd bildet sich dabei nur in Flüssigkeiten, welche zusammengesetzte organische Stickstoffverbindungen und Sauerstoff enthalten; seine Bildung wird dagegen durch reduzierende Stoffe (milchsaures Natron z. B.) und Sauerstoffabwesenheit verhindert. Die Entwicklung von  $H_2O_2$ , dessen Menge mit der Lichtstärke steigt, ist auf die Wirkung der chemischen Lichtstrahlen zurückzuführen.

Was die physiologische Wirkung des  $H_2O_2$  anbetrifft, so geben darüber zahlreiche Forschungen Aufschluß. Es sind, um die Wirkung des  $H_2O_2$  auf den Organismus festzustellen, Versuche angestellt worden, wobei das  $H_2O_2$  einmal subkutan, dann direkt ins Gefäßsystem und schließlich per os appliziert worden war. Während das subkutan oder ins Gefäßsystem eingeführte Wasserstoffsuperoxyd sehr heftige Krankheitserscheinungen, ja sogar den rasch eintretenden Tod hervorrief, blieb es, dem Darmkanal zugeführt, fast ohne Einfluß, freilich,



wenn es in nicht allzu großen Dosen verabreicht wurde. — Dies fand seine Bestätigung in den Versuchen von Guttman (8) und Schwerin (9). Vom Magen aus wurden verhältnismäßig sehr große Dosen ohne jeden Schaden vertragen. Ein Hund Schwerins überstand sogar 50 ccm einer 10-proz. Lösung, wenn auch unter schweren, aber schnell vorübergehenden Krankheitserscheinungen.

Rosam (2) fütterte während eines Monats einige Meerschweinchen mit sterilisierter Milch, welcher 1,5—3 Proz.  $H_2O_2$  beigesetzt wurden; die Tiere nahmen regelmäßig an Gewicht zu; irgend welche krankhafte Erscheinungen wurden vermißt. Rosam hat selbst vom 1. April bis zum 15. Juli, also mehr als 100 Tage lang, täglich 1—2 Halbliter Milch (im Ganzen 80 l) getrunken, welcher nach dem Erhitzen auf  $75^\circ C$  2—3‰  $H_2O_2$  beigesetzt worden war, hat sonach in dieser Zeit mit der Milch 1800 ccm gewöhnliches 3-proz.  $H_2O_2$  genossen, ohne die geringste nachteilige Wirkung zu spüren. Althoefer (6) konnte Wasser mit 1 Proz.  $H_2O_2$  trinken, ohne auch irgend welche üble Wirkung zu verspüren.

Hier sei noch die vielfach auf klinische Erfahrung und auf wissenschaftliche Versuche begründete Anwendung des  $H_2O_2$  zu therapeutischen Zwecken speziell bei der Wundbehandlung, erwähnt. So war in Deutschland die antiputride Wirkung schon durch Stöhr und Guttman bekannt; seither ist das  $H_2O_2$  in Paris, wo Baldy (17) zuerst die Aufmerksamkeit darauf lenkte, Gegenstand verschiedener Untersuchungen geworden, auf Grund derer es Bert und Regnard (18) bei der Wundbehandlung im allgemeinen, sowie bei verschiedenen phytoparasitären Affektionen empfehlen.

Baldy (17) fand, daß sowohl die Vibrionen und Bakterien im Eiter, als Infusorien und Soorpilz durch  $H_2O_2$  vernichtet wurden, wie auch Krätzmilben rasch in Lösungen von 6 Vol. zu Grunde gingen.

Guttman (20) stellt Mitteilungen über günstige therapeutische Wirkungen bei chronischen Magenkatarrhen und Diphtheritis in Aussicht.

Nach Honsell (34) übt  $H_2O_2$  (das Mercksche Präparat) einen günstigen Einfluß auf den Verlauf eiternder und ganz besonders jauchiger und gangränöser Prozesse. Auf frische Operationswunden gebracht, übt es keinerlei lokal oder allgemein schädigende Nebenwirkungen aus. Die durch Verschäumung bewirkte Reinigung der Wunden zugleich mit seiner absoluten Unschädlichkeit sichert dem  $H_2O_2$  eine gewisse Ueberlegenheit dem Sublimat und der essigsäuren Tonerde gegenüber. Bruns (35) empfiehlt zur Behandlung infizierter Wunden das  $H_2O_2$ , das auf seine Veranlassung von der Firma Merck absolut rein, säurefrei und hochkonzentriert dargestellt ist. Das bakterizide Vermögen des 3-proz. Mittels kommt dem 1-‰ Sublimat gleich. Außerdem wird die Ungiftigkeit, die stark desodorisierende Wirkung und die auffallend schnelle und gründliche Reinigung der Wunde hervorgehoben.

Von großem hygienischen Interesse sind die Versuche, welche zur Anwendung des  $H_2O_2$  bei der Trinkwasser- und bei der Milchsterilisierung geführt haben.

Von Hettinga-Tromp (5) hat die Wirkung des  $H_2O_2$  auf die Bakterien des Wassers untersucht und seine Resultate folgendermaßen resümiert:

1) Die zur Sterilisierung von Trinkwasser erforderliche Menge  $H_2O_2$  ist von der Anzahl der Keime und der Natur derselben abhängig. In den Versuchen des Verf. genügte für gewöhnliches verun-

reinigtes Trinkwasser ein Zusatz von 1 Teil  $H_2O_2$  zu 5000—50 000 Teilen Wasser zur vollständigen Sterilisierung in 24 Stunden. 2) Der Typhusbacillus wird durch 2 ‰  $H_2O_2$  in 24 Stunden, durch 5 ‰ schon in 5 Minuten, der Cholerabacillus gar durch 1 ‰  $H_2O_2$  in weniger als 5 Minuten getötet. Verf. glaubt daher, daß  $H_2O_2$  speziell in Anbetracht seiner kräftigen Wirkung auf Typhus- und Cholerabacillen ein geeignetes Desinficiens für das Trinkwasser sei.

Altehoefer (6) konnte eine so intensive Wirkung zwar nicht bestätigen, fand aber immerhin, daß Wasserstoffsuperoxyd in der Verdünnung 1:1000 für die vollständige Sterilisation verunreinigten Wassers, wie für die Abtötung von Reinkulturen des Typhus- und Milzbrandbacillus und auch des Choleravibrio genügte.

Eine besondere Bedeutung kommt dem  $H_2O_2$  bei der Milchsterilisation zu. Die Forscher, welche diese Frage studierten, kamen zu verschiedenen Resultaten. Frl. Chick (10) findet z. B., daß zur vollständigen Sterilisation der Milch ein Zusatz von 2 ‰  $H_2O_2$  erforderlich sei. Der Zusatz von 1 ‰ genüge, um die Milch für 1 Woche ungeronnen und süß zu erhalten, reiche aber nicht hin, um sie zu sterilisieren oder das Bakteriumwachstum in ihr vollständig zu hemmen. Rosam (2), der dieselben Versuche nachmachte, kommt zu dem Schlusse, daß die im allgemeinen angegebene Menge von 2 ‰  $H_2O_2$  zur Sterilisierung der Milch nicht hinreicht, da er in seinen Versuchen bei Zusatz von 2 Proz.  $H_2O_2$  nicht immer sterile Milch erhielt. Nach diesen Versuchen wäre eine praktische Verwendung des  $H_2O_2$  zur Sterilisierung einer Konsummilch ausgeschlossen. Frl. Chick hat daher den Zusatz von  $H_2O_2$  zur Milch nur zwecks Konservierung derselben zur chemischen Untersuchung empfohlen.

Ein bedeutender Fortschritt ist durch die schon erwähnte Arbeit von Budde bedingt worden. Von der Tatsache ausgehend, daß  $H_2O_2$  zur Herstellung einer sterilen Trinkmilch allein nicht ausreicht, hat dieser Forscher die gleichzeitige Anwendung einer gelinden Wärme ( $52^\circ C$ ) empfohlen. Für die praktische Ausführung seiner Methode gibt Budde folgende Vorschrift: „Zusatz von ca. 0,05 Proz.  $H_2O_2$  zur kalten Milch, darauf möglichst schnelle Erwärmung auf ca.  $52^\circ C$  in geschlossenen Behältern und Stehenlassen bei dieser Temperatur 8—10 Stunden lang. Die Milch wurde bei dieser Behandlung steril, selbst wenn z. B. Heu-Infus zugetan war.“ Die auf diese Weise zubereitete Milch erhielt sich während mehr als 2 Monaten steril; für den Verbrauch im Inlande kam er zu folgendem Verfahren: „Die Milch wird auf  $48-50^\circ C$  erwärmt, mit ca. 0,035 Proz.  $H_2O_2$  versetzt, bei genannter Temperatur während etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde tüchtig umgerührt, bei  $52^\circ C$  während 2 bis 3 Stunden hingestellt, in kaltem Wasser abgekühlt und dann auf Flaschen gefüllt. Unter dieser Behandlung hält sich die Milch sicher 8 bis 10 Tage bei gewöhnlicher Temperatur. In der Regel wird sie sich länger halten und oft vollständig steril werden.“

Gordan (11), der die Untersuchungen Buddes kontrollierte, kann letzterem nicht beistimmen. Er behauptet, daß kleine, von Budde angegebene Mengen  $H_2O_2$ , so gut wie keine Bedeutung auf die Sterilisation der Milch ausüben können. Größere Mengen  $H_2O_2$  wirken vorübergehend hemmend auf das Bakterienwachstum ein. Werden 3mal so große Mengen, wie Budde angibt, der Milch zugesetzt, dann erst werden alle Bakterien vernichtet. Ungefähr zu denselben Resultaten gelangt auch Barthel (30).

Auf Empfehlung des Herrn Dr. Silberschmidt habe ich bei meinen Versuchen hauptsächlich folgende Momente berücksichtigt:

- 1) Sterilisierung der Milch mit nicht neutralisiertem und mit neutralisiertem  $H_2O_2$ .
- 2) Einfluß der Temperatur auf den Keimgehalt der vorbehandelten Milch. (Aufbewahrung der Milch bei Zimmertemperatur und im Brutschrank.)
- 3) Buddisieren der Milch.
- 4) Vergleichende Untersuchungen mit frischgemolkener Milch, mit Marktmilch und mit sehr keimreicher Milch.
- 5) Wirkung des  $H_2O_2$  auf künstlich mit Reinkulturen (*Streptococcus*, *Bact. coli* und *Heubacillus*) infizierte Milch.

### Versuchsanordnung.

Die Gefäße wurden immer sorgfältig sterilisiert. Die Milch, ins Institut gebracht, wurde sofort entweder in kleine, 200 ccm enthaltende, mit steriler Watte verschlossene Medizingläser, oder in  $\frac{1}{2}$  l fassende, mit Patentverschluß versehene Milchflaschen verteilt. Dann wurde die nötige Menge  $H_2O_2$  in graduerten Büretten abgemessen. — In den Versuchen mit neutralisiertem  $H_2O_2$  wurde die Neutralisierung mit einer Natriumkarbonatlösung erst unmittelbar vor dem Versuche vorgenommen, weil, wie bekannt, das neutrale  $H_2O_2$  viel schneller zersetzt wird als das sauer reagierende. Nachher wurde die Milch kräftig umgerührt zur gleichmäßigen Verteilung des  $H_2O_2$  und entweder bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank aufbewahrt. Die Kulturen wurden meist erst 24 Stunden nach Zusatz von  $H_2O_2$  angelegt; nur im Anfang der Versuche geschah dies schon nach 4—5 Stunden, um die Schnelligkeit der Wirkung des  $H_2O_2$  festzustellen. Als Nährboden diente stets Nährgelatine, welche nach der Beschickung in sogenannte Petrische Schalen gegossen wurde. Um die Kolonien leichter zählen zu können, verdünnte ich die Milch im Verhältnis 1:20. 1 ccm Milch wurde im Reagenzglaschen mit 10 ccm sterilisiertem Wasser umgerührt und  $\frac{1}{2}$  ccm dieser Verdünnung mittelst einer sterilen Pipette in ein Reagenzglaschen mit flüssiger Nährgelatine (bei Temperaturen nicht höher als 30°) hineingebracht. Nur in einigen Fällen, wo es nötig war, in sehr bakterienreicher Milch die Zahl der Kolonien sehr genau zu bestimmen, wurden Verdünnungen von 1:250 event. 1:500 angefertigt. Für die Versuche mit frisch gemolkener Milch wurde letztere aus einer in 2 Minuten Entfernung vom Institute befindlichen Kuhstallung bezogen, wo die Milch direkt in sterile Kolben gemolken und im Institut sofort in Flaschen verteilt wurde; die Zeitdauer vom Melken bis zum Beginn des Versuches betrug niemals mehr als eine halbe Stunde.

In Fällen, wo keine einzige Kolonie auf der Gelatineplatte zur Entwicklung kam, wurden zur Feststellung der Sterilität weitere Kulturen angelegt, indem 0,5 oder 1 ccm der zu untersuchenden Milchprobe in Nährbouillon übertragen und nach 3-tägiger Aufbewahrung im Brutschrank auf Agar (oberflächlich) überimpft wurde.

### Bakterizide Wirkung von $H_2O_2$ verschiedener Reaktion in der Milch.

Warum haben die einzelnen Autoren unter scheinbar gleichen Bedingungen so verschiedene Resultate erhalten? Eine Erklärung für

diese widersprechenden Resultate liefern uns u. a. die Untersuchungen von Thenard (31): Dieser Autor fand, daß die Katalyse und die Wirksamkeit des  $\text{H}_2\text{O}_2$  abhängig ist von der Verdünnung, von der Temperatur und namentlich auch von der Reaktion der Flüssigkeit. In saurer Lösung erfolgt die Auflösung äußerst langsam; ist hingegen die Flüssigkeit alkalisch, so geht die Auflösung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  sehr energisch vor sich. Diese Befunde werden in der Arbeit von Budde für die keimtötende Wirkung des  $\text{H}_2\text{O}_2$  noch genauer formuliert: je rascher, je energischer der Sauerstoff in statu nascendi ausgeschieden wird, um so günstiger fallen die Resultate aus. „Die Dekomposition des  $\text{H}_2\text{O}_2$ , also die Bildung von Sauerstoff in statu nascendi wird ja in der Hauptsache durch die in der Milch vorhandenen Enzyme hervorgerufen und erfolgt deshalb bei gewöhnlicher Temperatur sicherlich in weit höherem Grade als wenn die Milch erwärmt wird, andererseits aber langsamer. Mit anderen Worten: Kalte Milch dekomponiert verhältnismäßig bedeutende Mengen  $\text{H}_2\text{O}_2$  (bis zu ca. 2 Proz.  $\text{H}_2\text{O}_2$ ); doch erstreckt sich die Reaktion auf einen längeren Zeitraum. Milch von  $50^\circ \text{C}$  dekomponiert dagegen nur geringe Mengen  $\text{H}_2\text{O}_2$  (ca. 0,04 Proz.); es verläuft aber die Reaktion, jedenfalls im Anfang, kräftiger, und die Wirkung des gebildeten Sauerstoffes wird hierdurch stärker. Milch von über  $60^\circ$  dekomponiert überhaupt kein  $\text{H}_2\text{O}_2$ , oder jedenfalls nur in äußerst geringer Menge, da die Enzyme bei so hoher Temperatur ganz ohne Wirkung sind und der sekundäre Einfluß des  $\text{H}_2\text{O}_2$  tritt deshalb bei Temperaturen über  $60^\circ \text{C}$  nicht hervor.“

Frl. Chick, Barthel u. a. weisen darauf hin, daß das im Handel befindliche sogenannte „technische“ 3-proz.  $\text{H}_2\text{O}_2$  immer ein gewisses Quantum  $\text{HCl}$  enthält. Um mich davon zu überzeugen, untersuchte ich 3-proz.  $\text{H}_2\text{O}_2$ , das ich aus drei verschiedenen Quellen bezog, vermittelt der Titrieranalyse. In allen 3 Präparaten  $\text{H}_2\text{O}_2$  war  $\text{HCl}$  enthalten, allerdings in verschiedenen Mengen. Während in zwei Sorten (A und B) die Menge der Säure 0,96 Proz. ausmachte, betrug dieselbe in der dritten Sorte (K) nur 0,16 Proz. Die Differenz im Säuregehalt ist somit eine nicht unerhebliche, und im Zusammenhang damit stehen auch die Resultate der bakteriologischen Versuche mit den beiden Sorten  $\text{H}_2\text{O}_2$ : die erste (A und B) machte Marktmilch bei Zimmertemperatur erst bei Zusatz von mehr als 1 Proz. (ca. 1,5 Proz.) steril, während von letzterer (K) schon 0,5 Proz. genügte, wobei die Bakterienzahl in der Milch in beiden Fällen ungefähr gleich war. Aus den Tabellen 3 und 4 ist ersichtlich, daß auch bei Aufbewahrung der Milch im Brutschranke dieselben Resultat sich ergeben: die Sorte A von  $\text{H}_2\text{O}_2$  wirkt sterilisierend bei Zusatz von 1 Proz., die Sorte K schon bei 0,2 Proz. Diese Befunde führen zu der Annahme, daß je höher der Säuregehalt, desto geringer die keimtötende Wirkung der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung ist.

Der Unterschied in der Wirkung zwischen saurer und neutralisierter  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung ist noch größer. Während ein Zusatz von 1 Proz. der ersteren nicht genügte, um Milch keimfrei zu machen (dies geschah erst bei  $1\frac{1}{2}$  Proz.), reichten schon 0,5, bisweilen sogar 0,2 Proz. der letzteren aus, namentlich wenn die Bakterienmenge in der Milch nicht allzu groß war (Tabellen 1 und 2). Ungefähr dieselben Verhältnisse ergaben die in Tabellen 3 und 5 angeführten Versuche bei Aufbewahrung der Milch im Brutschrank. In diesen Versuchen entsprach 1 Proz. des sauren  $\text{H}_2\text{O}_2$  in seiner Wirkung 0,2 Proz. des neutralisierten. Alle Kontrollversuche bestätigen diese Verhältnisse.

Diese Befunde erklären meiner Meinung nach die Verschiedenheit der Resultate von Fr. Chick und Rosam. Erstere neutralisierte jedesmal vor dem Gebrauch sorgfältig das  $H_2O_2$  mit Hilfe einer Natriumkarbonatlösung; letzterer scheint dies nicht getan zu haben, wenigstens erwähnt er nichts davon. Es ist wahrscheinlich, daß auch andere Autoren denselben Fehler begangen haben, weil auch sie von der Neutralisation des  $H_2O_2$  nicht sprechen, obschon Barthel z. B. „nicht unbedeutende Quantitäten Salzsäure“ in dem von ihm benützten Präparate fand.

#### Einfluß der Temperatur auf die bakterizide Wirkung von $H_2O_2$ .

Die schon besprochenen Tabellen (1, 2, 3 und 5) lassen uns auch den Einfluß der Temperatur auf die bakterizide Wirkung des  $H_2O_2$  erkennen; in den Versuchen 1 und 2 wurde die Milch bei Zimmertemperatur aufbewahrt, in den Versuchen 3 und 5 im Brutschrank. Der Unterschied ist zwar nicht so bedeutend wie in den Versuchen mit neutralem und mit saurem  $H_2O_2$ , jedoch schon deshalb auffallend, weil es sich nur um geringe Temperaturdifferenzen handelt (Zimmertemperatur im Juni und Bruttemperatur [37°]). Im Brutschrank wird die Milch schon bei Zusatz von 1 Proz. saurem (3) bzw. 0,2 Proz. neutralisiertem (5)  $H_2O_2$  steril; bei Zimmertemperatur wird derselbe Effekt erst durch 1,5 Proz. (1) bzw. 0,5 Proz. (2) erreicht. Alle Versuche stimmten in dieser Hinsicht überein. So z. B. ist aus den Tabellen 6 und 7 ersichtlich, daß 0,1 Proz.  $H_2O_2$  bei Zimmertemperatur und 0,07 Proz. im Brutschranke beinahe dieselbe bakterizide Wirkung ausüben.

Diese beiden Versuchsreihen bestätigen die Angaben Thenards, daß auf die Zersetzung von  $H_2O_2$  sowohl die Reaktion der Flüssigkeit, wie auch die Temperatur von Einfluß ist, vollständig. Auch Budd fand, daß sich die Milch im Thermostaten länger aufbewahren läßt, als bei gewöhnlicher Temperatur.

Die keimtötende Wirkung des  $H_2O_2$  in der Milch ist somit eine intensivere bei Bruttemperatur (37° C), als bei Zimmertemperatur.

Eine weitere Reihe von Versuchen bezweckte, die Bedeutung der Zahl der Bakterien auf die Sterilisierung der Milch mit  $H_2O_2$  festzustellen. Zur Lösung dieser Frage stellte ich vergleichende Versuche mit frischgemolkener, mit Marktmilch und mit sehr keimreicher Milch an. Um die Zahl der Keime zu erhöhen, stellte ich den Kolben mit Markt- oder mit frischgemolkener Milch auf 15 bis 16 Stunden bei 22° in den Gelatineschrank; in dieser Milch ergab sich nach 3 Tagen auf der Gelatineplatte eine Zahl von 2,5—4,5 Millionen Kolonien, auf 1 ccm berechnet, während unter gleichen Bedingungen in der Marktmilch gewöhnlich nicht mehr als 700 000—800 000 Kolonien vorhanden waren; in der frischgemolkene Milch schwankte die Zahl zwischen 1560 und 3580, nur einmal fand ich 15 640. Wenn wir darauf Rücksicht nehmen, daß das Melken unter gewöhnlichen Umständen geschah, daß weder das Euter noch die Hände des Melkers desinfiziert wurden, müssen wir die genannten Zahlen als normale, mittlere annehmen. Arthur Lux (13), der die Bakterienzahl in frischgemolkener Milch bestimmte, fand ein Minimum von 220, ein Maximum von 12 044 pro Kubikcentimeter dieselben Resultate finden wir bei Schulz, Burri (32), v. Freudenreich (25) u. a. Wie schon oben erwähnt, betrug die Zeitdauer zwischen dem Melken und dem Beginn der Versuche nicht mehr als  $\frac{1}{2}$  Stunde.

Die folgenden Tabellen liefern einen ausgezeichneten Beweis für die große Bedeutung der Menge der Bakterien. So sehen wir z. B. in 2 und 6, daß für die Sterilisierung einer Milch, welche nur 3580 Keime pro Kubikcentimeter enthält, ca. 0,1 Proz.  $H_2O_2$  nötig ist, daß andererseits, wenn die Zahl der Mikroorganismen sehr groß ist, ein Zusatz von 0,5 Proz. erforderlich ist. Bei der Aufbewahrung der Milch im Brutschrank genügt für die Marktmilch (5) ein Zusatz von 0,2 Proz.  $H_2O_2$ , für frischgemolkene Milch (7) sogar nur 0,07 Proz. Im Versuch 7 wurden die Milchproben 30, im Versuch 6 sogar 50 Tage lang beobachtet; die Milch blieb unverändert. Auch aus den Tabellen 8 und 10 ist zu ersehen, daß frischgemolkene Milch einen Zusatz von 0,03 Proz.  $H_2O_2$ , während die 4—4,5 Millionen Mikroorganismen pro ccm enthaltende Milch einen solchen von ca. 0,05 Proz. fordert. — Diese Resultate stimmen mit den von Bie mit Bouillonkulturen erhaltenen überein.

Die Sterilisierung der Milch mit Wasserstoffsperoxyd allein ist einstweilen praktisch nicht durchführbar. Im günstigsten Falle ist ein Zusatz von 0,2 Proz.  $H_2O_2$  für die Sterilisierung der Marktmilch erforderlich. Da das reine 30-proz. Präparat z. Z. wegen seines hohen Preises nicht in Betracht kommt, müssen wir mit käuflichem 3-proz.  $H_2O_2$  rechnen. Für die Sterilisierung von 1 l Marktmilch wären mindestens 90 resp. 220 ccm dieser Lösung erforderlich. Abgesehen von der dadurch bedingten Verdünnung der Milch und von den im käuflichen Präparat befindlichen Verunreinigungen kommt in erster Linie eine große Menge des unzersetzten  $H_2O_2$  in Betracht, welches infolge sehr unangenehmen metallischen Geschmacks die Milch ungenießbar macht. Frischgemolkene Milch erfordert allerdings erheblich kleinere Menge  $H_2O_2$ ; aber auch hier ist neben den praktischen Schwierigkeiten die zur Sterilisierung der Milch nötige Menge  $H_2O_2$  — 45 ccm pro Liter — und der unangenehme Beigeschmack zu berücksichtigen.

#### Verfahren nach Budde.

Ganz andere Resultate bekommt man bei Anwendung der von Budde angegebenen Methode der gleichzeitigen Einwirkung von  $H_2O_2$  mit einer gelinden Erwärmung ( $52^\circ C$ ), indem dadurch die erforderliche Menge  $H_2O_2$  noch bedeutend herabgesetzt wird. Die von mir angestellten Versuche bestätigen dies am deutlichsten. Die Tabelle 8 zeigt, daß in frischgemolkener Milch wenigstens während der ersten 20 Tage keine Bakterien nachgewiesen werden konnten nach Zusatz von 0,03 Proz.  $H_2O_2$ , d. i. pro Liter Milch ca. 10 ccm 3-proz.  $H_2O_2$ -Lösung. Versuche mit Marktmilch zeigen dasselbe Resultat (9); die nötige Menge  $H_2O_2$  ist 0,036 Proz., d. i. pro Liter 12 ccm; in einem Fall, wo in der Milch ca. 215000 Keime pro 1 ccm vorhanden waren, mußte nur 0,03 Proz. zugefügt werden.

Die Versuche wurden, abgesehen davon, daß die Milch nicht nach, sondern — um eine Infizierung zu vermeiden — vor den Versuchen in Flaschen verteilt wurde, im übrigen laut Vorschriften Buddes betreffend die Sterilisation der Milch fürs Inland ausgeführt. Der Gang der Versuche war folgender: Die Milch wurde in die sterilen Flaschen verteilt (gewöhnlich 100, 300 oder 400 ccm Milch), und diese wurden in Gefäße mit Wasser derart gestellt, daß das Niveau desselben das der Milch um ca. 2 cm überstieg; die Milch wurde bis auf  $50^\circ C$  erhitzt, dann nach Zusatz einer bestimmten Menge neutralisierten  $H_2O_2$  3 Stunden

lang auf 52° C erhalten. Während der ersten Stunde wurde die Milch alle 4—5 Minuten, später alle 10 Minuten tüchtig umgerührt; dann Abkühlung in kaltem Wasser. Der Bakteriengehalt resp. die Sterilität der Milch wurde durch Anlegung der Gelatineplatten geprüft, in der Weise, daß gleich nach dem Abkühlen resp. am zweiten, vierten und, wie aus den Tabellen ersichtlich, bis zum 14. resp. 20. Tage, Milch mit sterilen Pipetten entnommen und in die verflüssigte Gelatine übertragen wurde. In der Regel wurde jede Platte mit 0,05 ccm Milch beschickt. In einigen Fällen wurde die Sterilität wiederholt durch Anlegung von Bouillon- und Agarkulturen kontrolliert.

Die übereinstimmenden Resultate unserer Versuche lauten: für frischgemolkene Milch ist ca. 0,03 Proz., für Marktmilch 0,036 Proz., für sehr bakterienreiche Milch, welche vor der Behandlung 15—16 Stunden lang bei 22° C aufbewahrt worden war (im Versuche 10 mit 4—4½ Millionen Bakterien pro ccm) 0,05 Proz. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> erforderlich, um eine vollständige Sterilisierung zu erzielen. Diese Befunde entsprechen denjenigen von Budde; leider hat derselbe nicht angegeben, wie keimreich die von ihm verwendete Milch war.

#### Versuche mit Heubacillus.

Ist aber diese Methode hinreichend, um die Milch 1) von den widerstandsfähigsten, und 2) von den pathogenen Bakterien zu befreien? Gordan (11) stellt die Behauptung Buddes, daß der Zusatz von 0,036 Proz. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sogar den *Bacillus subtilis* töte, in Abrede; seiner Meinung nach ist dazu 0,07 Proz. oder sogar eine dreimal so große Menge, wie Budde angibt, notwendig, d. i. ca. 0,1 Proz. Zur Erforschung dieser Frage stellte ich folgende Versuche an: Während 3 Tagen wurde Marktmilch je ½ Stunde lang im Kochschen Topfe erhitzt; in einen 1 Liter-Kolben dieser sterilisierten Milch (auf 35° C abgekühlt) wurde ½,—1 ccm einer üppigen 2-tägigen Bouillonkultur von *Heubacillus* hinzugefügt und auf 5—6 Stunden in den Thermostaten gestellt. Dann wurde die Milch buddisiert. Es ergab sich (13), daß die von Budde angegebene Menge von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vollständig ausreicht zur Abtötung des *Heubacillus*, der der Milch auf die genannte Weise beigegeben war. Eine genaue Zählung der Bakterien auf der Kontrollplatte wurde zwar nicht ausgeführt; nach der ungefähren Bestimmung betrug die Zahl der zur Entwicklung gekommenen Kolonien jedenfalls mehr als 150 000—200 000 pro Kubikcentimeter Milch. In der 25 Tage lang aufbewahrten Milch waren keine entwicklungsfähigen Mikroorganismen nachweisbar.

#### Versuche mit pathogenen Bakterien.

Was die pathogenen Bakterien anbelangt, so kann man von vorneherein annehmen, daß viele von ihnen infolge des Buddisierens zu Grunde gehen, daß sie nicht imstande sein werden, eine 3 Stunden lang dauernde Erwärmung auf 52° C zu ertragen. In diesem Sinne äußern sich viele Autoren auf Grund von Versuchen. So gelang es z. B. Kolle (24), zu beweisen, daß *Cholera*vibrionen bei einer Temperatur von 50° C in 65 Minuten, bei 53° in 45 Minuten, Ruhrbakterien bei 55° C in 50 Minuten, Typhusbacillen bei 56° in 15 Minuten zu Grunde gehen.

Meine diesbezüglichen Versuche wurden mit *Streptococcus pyogenes* und mit *Bact. coli commune* vorgenommen; es wurden

Mengen von  $\frac{1}{2}$  bis 1 ccm Bouillonkultur mit der Milch vermenget, nachdem letztere auf dieselbe, oben beschriebene Weise präpariert worden war, wie in Versuchen mit dem Heubacillus. Die Resultate waren auch die gleichen: die Streptokokken (Tabelle 11) wurden bei Zusatz von 0,036 Proz., Bact. coli (12) schon bei 0,03 Proz.  $H_2O_2$  getötet; ein mit buddisierter Coli-Milch vorgenommener Kontrollversuch ergab, daß diese Milch nach 25 Tagen steril war. Es ist nicht nötig, hier zu beweisen, daß Tuberkelbacillen bei solcher Behandlung der Milch sehr schnell abgetötet werden.

Man kann mit Recht annehmen, daß bei dieser Sterilisationsmethode sämtliche pathogene Bakterien zu Grunde gehen. Lewin in Stockholm (28), welcher untersucht hat, ob alle krankheitserregenden Bakterien in der Milch durch das Buddisieren wirklich vernichtet werden, äußerte sich folgendermaßen: Durch Zusatz von  $H_2O_2$  bei einer Erwärmung auf  $50^\circ C$  kann die vollständigste Desinfektion der Milch bewirkt werden, ohne daß diese sich in Aussehen und Geschmack irgendwie verändert; zugleich kann eine solche Milch beliebig lange aufbewahrt werden, ohne sauer zu werden.

Um festzustellen, ob die Sterilisierung einer größeren Menge Milch sich anders gestaltet, habe ich neben den Flaschen von 100—400 ccm Inhalt einige Versuche mit größeren Mengen Milch ausgeführt. Es wurden je 700 ccm Milch in Glaskolben erhitzt und ähnlich behandelt; die Resultate waren den früher mitgeteilten entsprechend: Milch mit 0,036 Proz.  $H_2O_2$  vermischt, war noch am 17. Tag steril. Die Frage, ob auch bei großen Quantitäten Milch dieselbe Menge (0,036 Proz.)  $H_2O_2$  zur Sterilisation genügen wird, glaube ich daher bejahen zu können; es ist dabei nur etwas mehr Zeit für die Vorwärmung der Milch bis auf  $50^\circ C$  erforderlich. Es muß ferner streng darauf geachtet werden, daß das zugefügte  $H_2O_2$  von Anfang an gleichmäßig in der Milch verteilt, und daß letztere von Zeit zu Zeit tüchtig umgerührt werde.

Es wurde schon oben erwähnt, daß ein geringer Teil  $H_2O_2$  unzer setzt in der Milch bleibt und letzterer einen unangenehmen Beigeschmack verleiht; sogar bei Zusatz von 0,1 Proz.  $H_2O_2$  läßt sich derselbe deutlich spüren; bei 0,05 Proz. merkt man ihn mit Mühe, noch weniger deutlich ist er bei 0,036 Proz.  $H_2O_2$ . Um den Geschmack der mit  $H_2O_2$  behandelten Milch zu beurteilen, ließ ich sie verschiedene Personen kosten. Auf die einen machte sie den Eindruck einer durchaus frischen Milch ohne jegliche fremdartige Beimischung; die meisten jedoch (nämlich größtenteils Frauen) fanden einen — zwar sehr geringen — unangenehmen Nachgeschmack.

Es braucht hier nicht besonders darauf hingewiesen zu werden, daß die meisten Hygieniker sich gegen Anwendung von chemischen Substanzen für die Sterilisierung resp. die Konservierung von Nahrungsmitteln ausgesprochen haben. Bei der Milch, welche in der Ernährung der Säuglinge eine so große Rolle spielt, muß dieser Standpunkt am strengsten befolgt werden. Solange noch freies  $H_2O_2$  in der buddisierten Milch enthalten ist, solange können wir das Verfahren nicht als vollkommen bezeichnen.

Ist es aber möglich, das nicht verbrauchte Wasserstoffsperoxyd aus der Milch zu entfernen? Budde hat sich mit dieser Frage nicht befaßt. Auf Anraten von Herrn Dr. Silberschmidt habe ich versucht, eine Substanz ausfindig zu machen, welche eine ausgesprochene



katalytische Wirkung entfaltet, gleichzeitig aber unschädlich und eventuell leicht entfernbar wäre. In der Literatur ist eine große Anzahl katalytischer Stoffe angegeben. Unter den anorganischen Substanzen wurde keiner gefunden, welcher die genannten Bedingungen erfüllt; von den organischen besitzt das Blut, und zwar das Stroma der roten Blutkörperchen, die größte katalytische Kraft; es ist aber wegen seiner färbenden Eigenschaften nicht gut anwendbar. Fibrin und Fleisch, ob schon sie fähig sind,  $H_2O_2$  zu zerlegen, besonders das erstere, können auch nicht angewendet werden, weil sie nur im sterilisierten Zustande gebraucht werden könnten, und weil durch das Erhitzen die eben genannte Fähigkeit fast vollständig verloren geht.

Erstarrtes Blutserum besitzt, wie uns Versuche zeigten, die Eigenschaft,  $H_2O_2$  schwach zu katalysieren, und es wäre geeignet, das übrig gebliebene  $H_2O_2$  zu eliminieren; allein es wären zu große Mengen erforderlich. Am geeignetsten erwies sich in dieser Hinsicht das sterile, flüssige Blutserum, das jedoch den Nachteil hat, daß es aus der Milch nicht entfernbar ist. Als stark wirkendes Katalyticum kann es schon in kleinen Mengen das in der Milch übrig gebliebene  $H_2O_2$  zersetzen. Ob sich das Blutserum in der Praxis verwenden läßt, erscheint mir fraglich; abgesehen von dem Umstande, daß ein neuer Fremdkörper der Milch beigemischt wird, sei noch auf die Schwierigkeit der Sterilisierung des Blutserums hingewiesen.

In einer vor kurzem erschienenen Arbeit empfehlen De Waele, Sugg et Vandeveld die Verwendung von filtriertem defibrinierten Blut zur Entfernung der letzten Spuren von  $H_2O_2$  aus der Milch. Eine Menge von 0,1—0,2 Proz. Blut genügt, um die Reste von 0,3—0,4 Proz.  $H_2O_2$  vollständig zu spalten. Die Verf. geben an, daß die mit  $H_2O_2$  sterilisierte und mit Blut nachbehandelte Milch als Nährboden sehr geeignet sei. Die durch den Blutzusatz bedingte, wenn auch sehr geringe Rotfärbung der Milch wird die praktische Anwendung des Verfahrens bei der Trinkmilch gewiß verunmöglichen.

Bei der großen Bedeutung der Frage sind weitere Versuche in der angegebenen Richtung sehr erwünscht.

Eine schädigende Wirkung des  $H_2O_2$  bei dessen Verabreichung per os in der für die Sterilisierung der Milch erforderlichen Verdünnung ist nicht bekannt. Wir haben schon einige an Tieren und an Menschen vorgenommene Versuche angeführt. An dieser Stelle möchte ich noch die von Dr. Lindman aus Helsingborg mitgeteilten Erfahrungen erwähnen (29). Er hat nämlich buddisierte Milch mit Erfolg in seiner ärztlichen Praxis angewendet. Zunächst ließ er drei schwachen und schlecht genährten Kindern täglich  $\frac{1}{2}$  l dieser Milch geben. Er konnte nach 1 Monat eine Gewichtszunahme von resp. 1,5, 1,2 und 0,6 kg konstatieren. Er wandte darauf solche Milch bei akuten Magen- und Darmkatarrhen an; 20 Personen mit ähnlichen Affektionen im Alter von  $\frac{1}{2}$ —25 Jahren, welche unter Diät gehalten wurden und nur buddisierte Milch bekamen, erholten sich nach einigen Tagen. Wegen dieses überraschenden Resultates wurden chronische Krankheiten dieser Art in derselben Weise behandelt; die buddisierte Milch erwies sich als ein vortreffliches Mittel. Sodann wurde solche Milch gegen Magengeschwür (Ulcus ventriculi) angewandt, und zwar in 8 Fällen; die Patienten befanden sich sehr wohl bei dem Genuß dieser Milch. Endlich gab Lindman solche Milch bei Fiebernden. Im November und Dezember waren im Epidemiehospital zu Helsingborg 20 Patienten, welche an

Typhus abdominalis litten. Bis zum 9. Januar starben von diesen 3; 8 wurden als gesund entlassen und 9 befanden sich fieberfrei als Rekonvaleszenten daselbst. 18 von diesen Kranken hatten während des Fieberstadiums und die Tage hernach keine andere Nahrung als buddisierte Milch erhalten; jeder trank 2—3 l täglich davon.

Fernerhin berichtet Hansson aus Schonen hinsichtlich der Verwendung buddisierter Milch bei der Butterbereitung, daß beim Separieren solcher Milch keine Unbequemlichkeit entsteht. Butter aus dieser Milch hat sich 5 Wochen lang gehalten. Die Magermilch ist ebenfalls völlig haltbar. Ueber Käsebereitung aus solcher Milch liegen noch keine Erfahrungen vor.

#### Nachtrag bei der Korrektur.

Nachdem vorliegende Versuche abgeschlossen und das Manuskript abgeschickt worden war, erschien in der „Münchener medizinischen Wochenschrift“, No. 23, vom 6. Juni 1905, eine Arbeit von Baumann aus dem Hygiene-Institut Halle a. d. S. über dasselbe Thema. Die Versuche von Baumann sind nicht ganz so günstig ausgefallen, wie diejenigen von Budde und die hier mitgeteilten. Die Versuchsanordnung ist in der Arbeit von Baumann nicht ausführlich angegeben, so daß es nicht möglich ist, den bestimmten Grund für die Unterschiede in den Resultaten herauszufinden.

Die Erhitzung der Milch wurde nicht bei 52° C, sondern bei 45° resp. 50° vorgenommen; ferner wird nirgends die Neutralisierung des verwendeten H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> erwähnt, so daß die ungünstigen Resultate von Baumann wahrscheinlich auf Verwendung von sauer reagierendem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zurückzuführen sind. (Schluß folgt.)

### Bemerkung zu: Ehrenberg, Paul. Entgegnung auf das Referat in No. 18. Bd. XIII.

Von R. Thiele, Breslau.

Im laufenden Jahrgange, p. 302, hat Herr Dr. Ehrenberg eine Kritik meines Referates über seine Arbeit gebracht. Da ich mit Herrn Dr. Ehrenberg eine eingehende, beiderseitig befriedigende Aussprache gepflogen habe, verzichte ich, um die Sache nicht in die Länge zu ziehen, auf weitere schriftliche Auslassungen.

#### Inhalt.

**v. Basarewski, S.**, Ueber zwei neue farbstoffbildende Bakterien, p. 1.  
**Lukin, Mstislaw**, Experimentelle Untersuchungen über Sterilisierung der Milch mit Wasserstoffsperoxyd, unter spezieller Berücksichtigung des von Budde angegebenen Verfahrens, p. 20.

**Thiele, R.**, Bemerkung zu: Ehrenberg, Paul. Entgegnung auf das Referat in No. 18. Bd. XIII. p. 32.  
**Wehmer, C.**, Versuche über Mucorineengärung II., p. 8.

**Zusammenfassende Uebersichten.**

*Nachdruck verboten.*

**Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes  
durch Mikroorganismen<sup>1)</sup>.**

[Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Literatur.]

Von Dr. J. Vogel, Posen.

**I. Stickstoffsammlung durch Mikroorganismen ohne  
Symbiose mit Leguminosen.**

Zahlreiche Erfahrungen des Pflanzenbaues weisen darauf hin, daß im Boden stickstoffsammelnde Kräfte tätig sind, welche auch den Nicht-leguminosen ein gewisses Quantum von Stickstoff erschließen. Unsere chemischen Methoden setzen uns allerdings nicht in die Lage, eine eventuelle Zu- oder Abnahme des Stickstoffvorrates der Böden direkt durch die Analyse nachzuweisen, nur die nähere Erforschung der im Boden sich abspielenden biologischen Vorgänge kann in diesen Fragen Klarheit schaffen. Beweise dafür, daß eine Stickstoffsammlung durch frei lebende Bodenorganismen stattfindet, liefern alle die zahlreichen Versuche und Beobachtungen der praktischen Landwirtschaft, bei welchen trotz unzureichender oder fehlender Stickstoffdüngungen doch verhältnismäßig hohe Ernten in einer Reihe von aufeinanderfolgenden Jahren erzielt werden konnten, wo also eine lang währende Entnahme von Stickstoff durch die Ernten erfolgte, ohne daß für einen Ersatz desselben durch Düngung gesorgt zu werden brauchte, und ohne daß eine Erschöpfung des Bodens an Stickstoff eintrat. Es ist also, wie Caron (1) zuerst mit Nachdruck betonte, keineswegs notwendig, den aus der Wirtschaft ausgeführten Stickstoff wieder einzuführen, um weiterhin befriedigende Ernten zu erzielen. Für einen bestimmten Schlag seines Gutes Ellenbach berechnete Caron für die Zeit von 1885—1898, daß die Stickstoffausfuhr in den Ernten 600 kg betrug, während nur 420 kg auf den Hektar zugeführt worden waren. Trotzdem zeigten die Ernten eher eine steigende als fallende Richtung. „Es bleibt also nur die Schlußfolgerung übrig, daß der schwere Boden im stande ist, sich durch Vermittelung von Bodenbakterien unter gewissen Umständen an Stickstoff anzureichern, wie das zuerst von Berthelot durch Gefäßversuche nachgewiesen ist.“ Wie sollte man sich die Stickstoffversorgung der Prärien Nordamerikas, der Urwälder der Tropen, der zahllosen Wälder und Wiesen vorstellen, welchen seit Jahrhunderten Ernten entnommen werden, ohne daß auch nur der geringste Nährstoffersatz erfolgt, wenn man nicht an eine Nutzbarmachung des Luftstickstoffes glauben wollte? Und wie wäre ohne eine solche überhaupt der Stickstoffgehalt unserer Ackererde zu erklären? Hellriegel sagt in seinen berühmten Untersuchungen über die Stickstoffnahrung der Gramineen und Leguminosen: „Ich wüßte nicht, wie man ohne Zuhilfenahme solcher Ursachen (welche Stickstoffgewinne und Verluste im Boden unabhängig von den darauf

1) Siehe Jacobitz, diese Zeitschr. Bd. VII. 1901. p. 783.

wachsenden Pflanzen bedingen) die Bildung der Ackererde überhaupt, die als Verwitterungsboden aus stickstofflosem Material entsteht, sich allmählich ohne Dazwischentreten der Kultur und menschlicher Nachhilfe mit einer Pflanzendecke bekleidet und einen ansehnlichen Vorrat an Stickstoff anhäuft, erklären sollte. Ich glaube weiter, daß diese Ursachen eine Rolle in dem praktischen Betriebe der Landwirtschaft spielen können, und daß es eine ebenso dringliche wie dankbare Aufgabe ist, die Wirkung derselben nach allen Richtungen klarzulegen.“ Henry (2) hat den experimentellen Beweis erbracht, daß abgestorbene Blätter sowohl für sich allein, als auch mit Erde gemischt, die Eigenschaft besitzen, Luftstickstoff in ansehnlichen Mengen zu binden. Nach seinen Versuchen speichert das auf dem Boden des Waldes liegende Eichenlaub 13 kg, Buchenlaub 22 kg Stickstoff pro Jahr und Hektar auf.

Nach weiteren Beweisen dafür, daß dem Boden stickstoffsammelnde Kräfte innewohnen, wird man füglich kaum zu suchen haben, wohl aber ist die nähere Erforschung dieser Kräfte und der durch sie ausgelösten Vorgänge von größter Bedeutung, und daher ist auch das Studium derselben in den letzten Jahren mit großem Eifer und nicht ohne Erfolg betrieben worden.

Erkennt man der Ackererde die Fähigkeit zu, Stickstoff aus der Luft aufzunehmen, so kann sie diese bedeutsame Eigenschaft entweder bestimmten in ihr ruhenden chemischen Kräften, oder auch der Lebens-tätigkeit gewisser von ihr beherbergter Organismen verdanken, welche den freien Stickstoff zu ihrer Ernährung verwenden können, also mit der wichtigen Eigenschaft „Stickstoff zu sammeln“ ausgestattet sind. Im Hinblick auf die geringe Reaktionsfähigkeit des Stickstoffes ist es ganz unwahrscheinlich, daß chemische Vorgänge bei seiner Ansammlung im Boden von größerer Bedeutung sind. Das ist bisher auch nur von Bonnema (3) und selbst von diesem nur ganz zaghaft behauptet worden. Durch Sestini (4) ist bereits der Nachweis geführt worden, daß die Ansicht Bonnemas, der primäre Vorgang bei der Fixierung von freiem Stickstoff in Kulturböden sei ein rein chemischer, auf die Oxydation von Stickstoff zu salpetriger Säure mittelst Eisenhydroxyd zurückzuführender Prozeß, eine irrige ist. Die Eisensalze sind nur im stande, das in der Bodenluft bereits vorhandene Ammoniak in salpetrige Säure überzuführen. Bei der Umwandlung des gasförmigen Stickstoffes in feste Verbindungen auf chemischem Wege ist ein ganz bedeutender Energieaufwand erforderlich, welcher bei den im Boden verlaufenden chemischen Reaktionen zweifellos nicht geliefert werden kann, wohl sind aber, wie wir nunmehr bestimmt wissen, gewisse Mikroorganismen im stande, die zur Bindung des freien Stickstoffes notwendige Energie aufzuwenden.

Der Nachweis solcher Lebewesen in allen Bodenarten ist in neuerer Zeit gelungen, ihre allgemeine Verbreitung ist eine nicht mehr zu bestreitende Tatsache, und es ist unter Berücksichtigung der in den letzten Jahren näher bekannt gewordenen Eigenschaften dieser stickstoffbindenden, in das Reich der Bakterien gehörigen Organismen, nicht daran zu zweifeln, daß sie eine Stickstoffsammlung in den Kulturböden bewirken, und daß der auf solche Weise angehäuften Stickstoff den höheren Pflanzen zu gute kommt. Dieser mit mathematischer Schärfe allerdings nicht beweisbaren, jedoch durch die Erfahrungen der Praxis gestützten und wohl allgemein anerkannten Annahme ist nur durch Th. Pfeiffer (5) neuerdings ernstlich entgegengetreten worden. Er

glaubt, die den stickstoffsammelnden Bakterien zugeschriebenen Erfolge mit größerer Wahrscheinlichkeit ganz oder teilweise auch anders erklären zu können, gibt jedoch zu, daß er bei seiner Beweisführung mit allerlei Annahmen und vorläufig unbeweisbaren Erwägungen rechnen mußte. Zu wenig berücksichtigt hat er vor allem das biologische Verhalten der im Boden doch zweifellos enthaltenen stickstoffbindenden Bakterien, insbesondere der *Azotobacter*-Arten. Diese Organismen werden, wenn Stickstoff in gebundener Form zugegen ist, sehr bald von anderen, auf stickstoffhaltige Nahrung angewiesenen Arten überwuchert, sie würden unter solchen Verhältnissen die Bedingungen für ihre Entwicklung nicht finden und mit Sicherheit zu Grunde gehen, wenn sie nicht von ihrer Fähigkeit, den Luftstickstoff verwenden zu können, Gebrauch machen würden. Nun darf doch wohl angenommen werden, daß diese allgemein verbreiteten Bodenbewohner in ihrem natürlichen Medium, dem Ackerboden, ihr Stickstoffsammelungsvermögen in vollkommener Weise ausnutzen werden. Zu einer solchen Annahme ist man um so mehr berechtigt, als die *Azotobacter*-Arten meistens in außerordentlich großer Anzahl in den oberen Bodenschichten vorhanden sind, hier also geeignete Bedingungen nicht nur für ihre Existenz, sondern auch für ihre Vermehrung finden. Mit dieser wird ohne Zweifel eine Stickstoffaufnahme aus der Luft verbunden sein. Daß die von Pfeiffer in den Vordergrund gerückte Nutzbarmachung des im Boden schlummernden Stickstoffkapitals durch manche Maßnahmen der Bodenkultur für die Stickstoffernährung der Kulturgewächse von großer Bedeutung ist, soll natürlich nicht geleugnet werden. Löhnis (6) hat bereits darauf hingewiesen, daß es Pfeiffer nicht gelungen ist, die von Caron sowohl, als von Julius Kühn (7) für ihre bekannten Erfolge bei Brachbearbeitung und bei ewigem Roggenbau gegebene Deutung zu widerlegen. Die Pfeifferschen Darlegungen können daher nur als eine subjektive vornehmlich vom Standpunkte des Agrikulturchemikers aus gefaßte Meinung gelten. Sie sind nicht im stande, die zahlreichen Erfahrungen der Praxis und Beobachtungen der Agrikulturbakteriologie, welche auf eine in den Kulturböden beständig vor sich gehende, durch frei lebende Mikroorganismen bewirkte Stickstoffbindung hinweisen, und nur durch eine solche zu erklären sind, zu entwerten. Auf die Ausführungen Pfeiffers über Brache und Raubbau kann an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden. Auch sie können nur als Ausdruck einer rein persönlichen, keineswegs allgemein geteilten Anschauung aufgefaßt werden. Es geht dies z. B. daraus hervor, daß Pfeiffer es jetzt schon für erwiesen ansieht, daß Schwarzbrache unter allen Umständen einen forcierten Raubbau an Stickstoff bedingt. v. Rümker (8) dagegen hält den Sachverhalt bezüglich des Stickstoffes noch nicht für geklärt und sieht zunächst bei Brachwirtschaft nur einen Raubbau an Mineralstoffen für erwiesen an.

Die Annahme, daß alle fruchtbaren Böden stickstoffbindende Organismen beherbergen, hat eine wesentliche Stütze erfahren durch die Beijerinck (9) gelungene Isolierung der sogenannten *Azotobacter*-arten und durch das nähere Studium der Eigenschaften dieser Lebewesen. Die Rolle, welche dieselben in der Natur spielen, wäre gar nicht verständlich, wenn man ihnen nicht die Befähigung zuerkennen wollte, außer in künstlichen Nährlösungen im Laboratorium, auch beim Vollzug ihres Lebensprozesses im Boden freien Stickstoff zu binden.

Beijerinck gelangte auf dem Wege der elektiven Kultur,

welcher zuerst von Winogradsky mit Erfolg eingeschlagen wurde und ihn zur Isolierung seines *Clostridium Pasteurianum* führte, zu einer Gruppe von Bodenorganismen, welche in sehr stickstoffarmen Nährsubstraten zu gedeihen vermögen, auf Stickstoff in gebundener Form also nicht angewiesen sind. Diese „oligonitrophilen Mikroben“ haben das Vermögen, „den freien atmosphärischen Stickstoff binden und zu ihrer Ernährung verwenden zu können.“ Bei Aussaat von Gartenerde in eine Nährlösung, welcher Stickstoffverbindungen nicht zugesetzt waren (100 Leitungswasser, 2 g Mannit, 0,02 g Kaliumphosphat) gewann bei reichlichem Luftzutritt stets mit größter Leichtigkeit eine durch die Größe der Individuen auffallende Bakterienart das Uebergewicht über die begleitenden Arten. Sie wurde von Beijerinck in Reinkultur gewonnen und mit dem Namen *Azotobacter* belegt. In diesen Mikroorganismen haben wir also die ersten aëroben Oligonitrophilen vor uns.

Beijerinck hat bereits bei seinen Versuchen zur Isolierung der *Azotobacter*-Arten die Erfahrung gemacht, daß deren Entwicklung durch Spuren von Stickstoffverbindungen begünstigt wird, daß etwas größere Mengen von gebundenem Stickstoff jedoch den nitrophilen Bakterien stets ein derartiges Uebergewicht verschaffen, daß die Reinzüchtung der *Azotobacter*-Arten nicht mehr gelingt. Schon 10 mg Kaliumnitrat pro Liter Nährlösung führten zu einer vollkommenen Unterdrückung von *Azotobacter*, andere Stickstoffverbindungen beeinträchtigten in noch geringerer Quantität die Vermehrung dieser Mikroben. Reinkulturen von *Azotobacter* werden allerdings durch einen gewissen, nicht allzu hohen Stickstoffgehalt des Nährmediums in ihrer Entwicklung gefördert.

Nach Aussaat geringer Mengen von Gartenerde in die genannte stickstofffreie Nährlösung bilden sich schon nach einigen Tagen auf der Oberfläche treibende Häute, welche vornehmlich aus einer, wegen der bald auftretenden braunen Verfärbung von Beijerinck *Azotobacter chroococcum* genannten Mikrobenart bestehen. Aus den Deckhäuten können sehr leicht mittelst Mannitagarplatten (100 ccm dest. Wasser, 2 g Mannit, 0,02 g Kaliumphosphat, 2 g Agar) Reinkulturen von *Azotobacter* erhalten werden. Die Kolonien desselben fallen schon nach 24 Stunden durch ihre kleisterartige Beschaffenheit gegenüber den wässerig-durchsichtigen Kolonien der Nitrophilen auf und werden durch die bald auftretende Braunfärbung außerordentlich charakteristisch und auf den ersten Blick erkennbar.

Die *Azotobacter*-Zellen bieten je nach der Art ihrer Ernährung und dem Alter der Kulturen ein durchaus verschiedenes mikroskopisches Bild. In sehr stickstoffarmen Substraten zeigen sich vornehmlich dicke, kurze Stäbchen, welche oft zu riesigen Diplokokken verbunden erscheinen. Bei vereinzelter Zellen ist in jungen Kulturen eine ruhige, langsame, durch eine einzelne polare Cilie verursachte Bewegung zu beobachten. Sehr häufig erkennt man Vakuolen im Inneren der Zellen. Beim Eintritt der Braunfärbung in den Kulturen wird die Größe der Individuen geringer und ihre Gestalt mehr kugelig, so daß man zuweilen Kokken vor sich zu haben glaubt. Nicht selten sind diese Formen zu Sarcina-ähnlichen Paketen vereinigt. *Azotobacter chroococcum* bildet sehr leicht Involutionsformen, welche Riesenzellen von 10—15  $\mu$  darstellen, zuweilen auch den Eindruck von Amöben oder Hefezellen machen können. Zur Sporenbildung sind die *Azotobacter*-Arten nicht

befähigt. Sie sind, nach Beijerinck und van Delden (10), unter allen Umständen, auch bei Gegenwart von Glukose, Alkalibildner. Gegen Austrocknen weist *Azotobacter* eine hohe Resistenz auf. Heinze (11) fand ihn auf 6—8 Monate alten, vollständig vertrockneten Gipsblockkulturen noch lebensfähig, Fischer (12) beobachtete zahlreiche lebensfähige Zellen in 6—9 Monate alten, ebenfalls völlig ausgetrockneten Kulturen.

Beijerinck hat auch bereits festgestellt, daß *Azotobacter* nicht auf Mannit allein als Kohlenstoffquelle angewiesen ist, sondern eine ganze Reihe von organischen Stoffen zu seiner Ernährung verwenden kann.

In erster Linie kommen hier in Betracht Propionate, welche ebenso wie Mannit von Beijerinck mit Vorliebe angewendet wurden, weil sie den Eintritt von Buttersäuregärungen hintanhaltend, und dadurch das Uebergewicht von *Azotobacter* über die anaëroben oligonitrophilen Arten ermöglichen. Mannit kann außerdem ersetzt werden durch Glukose, Lävulose, Galaktose, Rohrzucker, Maltose, gequollene Stärke (14), nicht aber durch Milchzucker. Auch Glycerin sowie Äthylalkohol sind, wenn auch weniger gut, als Nährstoffe für *Azotobacter* geeignet. Ferner werden von diesem Organismus assimiliert: Propionate, Butyrate, Laktate, Malate, Succinate, Acetate, Citrate, nicht jedoch Tartrate und Formiate. Heinze (11) hat für die *Azotobacter*-Organismen nachgewiesen, daß sie im Stande sind, Glykogen zu produzieren und dasselbe unter Bildung von Dextrose wieder zu verarbeiten. Er glaubt, daß die Bildung und der Verbrauch von Glykogen durch *Azotobacter* für diese Organismen von Bedeutung werden kann, wenn im Boden oder in anderen Kulturmedien Mangel an löslichen Kohlenhydraten eintritt. Dann werden diese Mikroben das aufgespeicherte Glykogen selbst zersetzen (eine Art Selbstgärung erleiden), dabei unter anderem Zucker bilden und so unter Umständen ihre stickstoffassimilierende Tätigkeit immer wieder von neuem entfalten können.

Auf die weite, ganz allgemeine Verbreitung der *Azotobacter*-Arten hat Beijerinck ebenfalls bereits hingewiesen. Er fand dieselben außer in Gartenerde in Wiesenboden, im Ton eines Weizenackers, im Sand der Meeresdünen und Kartoffeläcker, sowie in altem Blattdünger. Heidesand erwies sich frei von *Azotobacter*.

Ein von *Azotobacter chroococcum* in wesentlichen Punkten sich unterscheidender, jedoch in die gleiche Gruppe gehöriger, ebenfalls oligonitrophiler Organismus ist von Beijerinck aus Kanalwasser isoliert und *Azotobacter agilis* genannt worden. Diese sehr lebhaft bewegliche Art wächst auf den verschiedensten Nährböden, besonders gut auf Leitungswasseragar mit 2 Proz. Glukose und 0,02 Proz. Dikaliumphosphat.

Ein eingehendes Studium haben Gerlach und Vogel den *Azotobacter*-Arten in der Folge gewidmet und ihre dabei gewonnenen Erfahrungen in mehreren Veröffentlichungen (13, 14, 15) niedergelegt. Sie haben, wie ich an anderer Stelle bereits erwähnte (16), zuerst den zahlenmäßigen Nachweis für das Stickstoffsammelungsvermögen von *Azotobacter chroococcum* erbracht, und die von Beijerinck und van Delden (10) später vertretene Ansicht, daß *Azotobacter chroococcum* nur bei gleichzeitiger Anwesenheit anderer Bakterienarten zu einer Stickstoffassimilation befähigt sei, als irrig erwiesen. Die

Isolierung gelang in der von Beijerinck angegebenen Weise mit Leichtigkeit aus einer großen Anzahl der verschiedensten Böden, gleichgültig ob dieselben humusreich oder humusarm, sandig oder lehmartig waren. Der von Beijerinck wegen seiner Neigung zur Säurebildung nur ungern als Nährstoff verwendete Traubenzucker hat sich bei diesen Untersuchungen vortrefflich bewährt. Nur bei sehr feinerdereichen Tonböden wurde das *Azotobacter*-Wachstum in den Traubenzucker-Rohkulturen durch Buttersäurebildner zuweilen unterdrückt, in diesen Fällen erwies sich dann Mannit als geeigneter. Aus einigen solcher „schweren“ Böden gelang die Isolierung von *Azotobacter* überhaupt nicht, ebenso wenig aus Moorböden von deutlich saurer Reaktion. In allen übrigen Bodenarten ist er jedoch von zahlreichen Forschern mühelos aufgefunden worden. Winogradsky (17) scheint ihn schon 1893 bei der Untersuchung von Böden aus Petersburg, Paris und Südrußland vor sich gehabt zu haben, ohne ihm jedoch größere Bedeutung beizulegen. Auch die von Krüger (24) im Jahre 1900 aus Boden des landwirtschaftlichen Versuchsfeldes Halle isolierte, damals nicht näher beschriebene stickstoffbindende Bakterienart ist von Beijerinck als *Azotobacter* erkannt worden. Koch (18, 19) fand *Azotobacter* in verschiedenen Böden der Provinz Hannover und aus Braunschweig, sowie im Dünen sand der Nordseeinsel Juist. Er konnte gleichzeitig feststellen, daß *Azotobacter* im Boden seines Göttinger Versuchsfeldes bis auf 80 cm Tiefe vorkommt, vornehmlich allerdings in den oberen 5—7 cm der Ackerkrume vorhanden ist. Chester (20) fand *Azotobacter* im Boden von Delaware, die von ihm isolierte Form soll allerdings für sich allein nicht zur Stickstoffbindung befähigt gewesen sein. v. Freudenreich (21) isolierte *Azotobacter chroococcum* aus Gartenerde des Versuchsfeldes in Bern, sowie aus Straßenstaub und aus einer von Dijon stammenden Erde. Er fand ihn stets bis zu 50 cm Tiefe vor, in Tiefen von 100 und 190 cm wurde er durch Clostridien zurückgedrängt. Heinze (11) konstatierte das Vorkommen von *Azotobacter* auf den Parzellen des Lauchstädter Versuchsfeldes, besonders reichlich in Brachparzellen, ferner im Saalewasser, in Schmutzwässern, in Acker-, Wiesen- und Waldboden aus der Nähe von Halle, in Bodenproben aus Tirol und Oberitalien, in indischer Schwarzerde aus dem Himalayagebiet, in Schwarzerde der Nord- und Südtiroler Kalkalpen, des Wettersteingebirges u. s. w. Die Verbreitung von *Azotobacter* ist aber keineswegs auf das Festland beschränkt. Benecke und Keutner (22) erhielten bei Anwendung des elektiven Kulturverfahrens aus Schlick und Plankton von Ostseewasser regelmäßig *Azotobacter chroococcum* in den Rohkulturen, meistens vergesellschaftet mit *Clostridium Pasteurianum*. Die in solchen Rohkulturen erzielten Stickstoffgewinne schwankten zwischen 1,0 und 25,0 mg bei Darbietung von 4 g Dextrose bez. Mannit pro 100 ccm Nährflüssigkeit. Diese Forscher äußern die Ansicht, daß *Azotobacter* vielleicht dazu berufen sei, vorwiegend in den oberen Wasserschichten, wo Clostridien fehlen können, den Stickstoff zu binden, vorausgesetzt, daß ihm durch andere absterbende Planktonorganismen die nötige Nahrung und Energie zugeführt wird. Keutner (23) hat später seine Forschungen über das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere weiter fortgeführt und solche Organismen an verschiedenen Stellen der Ost- und Nordsee, ferner im indischen Ozean, sowohl an der afrikanischen Küste, als auch im malayischen Archipel aufgefunden. Auch im Plankton von Süß-



wasserbecken, sowie an einigen Orten des tropischen Festlandes (Amani, Buitenzorg) konnte das Vorkommen von *Azotobacter chroococcum* und *Clostridium Pasteurianum* erwiesen werden. *Azotobacter* war vorwiegend auf größeren, Filtrierpapier nicht passierenden Organismen, seltener im freien Wasser anzutreffen, da er dort reichlichere Nahrung findet, als im Wasser selbst. Der Nachweis gelang daher leicht im Schlick des Meeresgrundes, an festsitzenden Algen und im Plankton.

Die Isolierung von *Azotobacter chroococcum* und die Gewinnung und Fortzüchtung desselben in Reinkultur bereitet, wie erwähnt, keinerlei Schwierigkeiten. Es erfolgt zunächst eine Anreicherung an *Azotobacter* durch Aussaat des betreffenden Materials in stickstofffreie Nährlösung, alsdann Uebertragung der *Azotobacter*-reichen Rohkulturen auf Glukose- oder Mannitagarplatten und endlich Abimpfung der heranwachsenden charakteristischen Kolonien auf geeignete stickstoffarme Nährsubstrate. Gerlach und Vogel verwendeten mit gutem Erfolge fast ausschließlich Traubenzucker als Kohlenstoffquelle. Beijerinck und van Delden (10) erzielten ebenfalls bei Anwendung von Glukose im allgemeinen höhere Stickstoffgewinne als bei Zugabe von Mannit, sie halten jedoch eine häufigere Ueberimpfung von Rohkulturen in Glukosenährlösung nicht für durchführbar, „weil dadurch entweder das rasche Ueberhandnehmen von säurebildenden anaëroben Bakterien, von Aërobacterformen oder von Buttersäureferment alles weitere Wachstum zum Stillstand bringt.“ In solchen Fällen wird daher stets Mannit als Kohlenstoffquelle vorzuziehen sein, doch ist für die erste Anhäufung von *Azotobacter* zum Zwecke der Isolierung und für die Weiterzüchtung von Reinkulturen Traubenzucker eine vortreffliche, dem Mannit überlegene Energiequelle. Allerdings empfiehlt es sich, bei Anwendung von Glukose den Nährflüssigkeiten stets etwas Calciumkarbonat zuzusetzen. v. Freudenreich (21) ist, wenn auch schwierig, durch das Gelatineplattenverfahren zu Reinkulturen von *Azotobacter chroococcum* gelangt, viel leichter wurde aber auch nach seinen Angaben die Isolierung mittels des stickstoffarmen Glukose- oder Mannitagars erreicht.

Wenn eine quantitative Bestimmung des von den Bakterien aufgenommenen Stickstoffs vorgenommen werden soll, empfiehlt sich nach Angaben von Gerlach und Vogel stets die Anwendung von mindestens 1000 ccm Nährlösung, welche, in großen Erlenmeyer-Kolben befindlich, der Luft die für das Gelingen solcher Versuche notwendige breite Oberfläche darbieten. Die spätere Analyse solch großer Flüssigkeitsmengen bereitet durchaus keine Schwierigkeiten. Nach schwachem Ansäuern mit Schwefelsäure können die Kulturflüssigkeiten auf freier Flamme direkt im Kjeldahl-Kolben eingeengt werden. Ein Eindampfen im Vakuum, wie es Beijerinck und van Delden für geboten halten, ist unnötig. Es ist keineswegs angängig, die in kleineren Flüssigkeitsmengen gefundenen Stickstoffquantitäten durch einfaches Multiplizieren auf größere direkt umzurechnen. Das beweisen schon die von Krüger und Schneidewind (24) mitgeteilten Ergebnisse ihrer Versuche über Stickstoffsammlung durch die oben bereits erwähnte, im Jahre 1900 isolierte Bakterienart. Nach 62 Tagen hatte die mit diesen Mikroben geimpfte Nährlösung bei Anwendung von 100 ccm um 4,6, bei 200 ccm um 6,8 und bei 300 ccm um 8,5 mg Stickstoff zugenommen. Wer demnach in 100 ccm 4,6 mg gebundenen Stickstoff feststellen kann, wird unter sonst gleichen Bedingungen bei Anwendung von 1000 ccm Nähr-

lösung nicht 46 mg, sondern meistens bedeutend weniger Stickstoff finden. Die von Beijerinck und van Delden (10), v. Freudenreich (21) u. a. in geringen Mengen Kulturflüssigkeit gefundenen und dann auf 1000 ccm umgerechneten Stickstoffwerte bedürfen daher wohl einer gewissen Korrektur.

Die Menge des von *Azotobacter chroococcum* in solchen stickstoffarmen Nährlösungen festgelegten Stickstoffs steht bis zu einer gewissen Grenze in direktem Verhältnis zur Menge der vorhandenen Kohlenstoffquelle. Bei einer Versuchsreihe von Gerlach und Vogel (14) wurden in 1000 ccm Nährlösung bei Anwesenheit von 1 g Traubenzucker 7,4 mg Stickstoff, bei Gegenwart von 12 g Traubenzucker 127,9 mg Stickstoff assimiliert. Im Mittel sind bei diesem Versuch pro 1000 mg Traubenzucker 8,9 mg Stickstoff festgelegt worden. Der Traubenzucker verschwand dabei vollständig aus den Nährlösungen, es sind also 1000 mg desselben verbraucht worden, um den Mikroben die Bindung von etwa 9 mg Stickstoff zu ermöglichen. Dieser bedeutende Energieaufwand ist nach Ansicht von Gerlach und Vogel erforderlich, um in den lebenden Zellen eine direkte Anlagerung von freiem Stickstoff an organische Kohlenstoffverbindungen und so die Bildung amidartiger Körper zu ermöglichen, welche dann weiter in eiweißartige Stoffe übergeführt werden. v. Freudenreich (21) erzielte hohe Stickstoffgewinne bei Kultivierung von *Azotobacter chroococcum* auf Gipsplatten, welche mit Mannitnährlösung befeuchtet waren. Auf 20–25 ccm dieser Nährflüssigkeit entfiel ein Stickstoffgewinn von etwa 4 mg. In Rohkulturen nehmen die Stickstoffbakterien nach Beobachtungen von Keutner (23) den Stickstoff am kräftigsten auf bei Anwesenheit von 1–4 Proz. Traubenzucker, 6 Proz. wirkten dagegen nachteilig. Das Maximum des Stickstoffgewinnes bei Mischkulturen liegt also bei weitaus höheren Konzentrationen als bei Reinkulturen, wo [nach Gerlach und Vogel (14)] schon 1,5 Proz. Traubenzucker schädigend gewirkt hatten. Beachtenswerte Stickstoffzunahmen konstatierte Löhnis (25) bei Aussaat von Erde in eine Nährlösung, welche Bodenextrakt<sup>1)</sup> und entsprechende Zusätze enthielt. In solchen Nährmedien verliefen nicht nur Stickstoffsammlung, sondern auch andere physiologische Vorgänge, wie Eiweißspaltung und Denitrifikation, energischer, als in den im allgemeinen zur Anwendung kommenden, ohne Zugabe von Bodenextrakt hergestellten Nährsubstraten. Es geht dies deutlich aus der folgenden von Löhnis zusammengestellten Tabelle hervor.

Es wurden pro 1000 mg Glukose bez. Mannit gebunden:

nach Winogradsky (17) ( <i>Clostridium Pasteurianum</i> , rein)	2–3 mg N
„ Freudenreich (21) (Roh- und Reinkulturen)	4–8 „ „
„ Beijerinck (10) ( <i>Azotobacter</i> , Rohkultur) in maximo	6,93 „ „
bei eigenen Versuchen mit Mannitlösung in maximo	8,52 „ „
nach Gerlach und Vogel (14) ( <i>Azotobacter</i> , Reinkultur) im Mittel	8,9 „ „
bei den Versuchen mit Bodenextrakt in maximo	11,49 „ „

Das Verhalten von *Azotobacter chroococcum* zu einer großen Anzahl ihm in verschiedener Form dargebotener Nährstoffe ist von Gerlach und Vogel (14, 15) ebenfalls eingehend studiert worden. Sie konnten die auch von Beijerinck (9) bereits hervorgehobene

1) Dieser wird gewonnen durch 2 Stunden langes Kochen von 1 kg Erde, die dem zur Untersuchung herangezogenen Felde entstammt, mit 2 l Leitungswasser. Die Flüssigkeit wird geklärt, filtriert und konzentriert.

Empfindlichkeit dieser Organismen gegen gebundenen Stickstoff bestätigen. Auf einigen der gewöhnlichen stickstoffreichen Nährsubstraten wächst *Azotobacter chroococcum* nicht oder doch nur sehr kümmerlich. Eine Peptonbouillon (10 Proz. Fleischextrakt, 1 Proz. Pepton,  $\frac{1}{2}$  Proz. Kochsalz) ist demnach noch nach Wochen klar, wenn sie nur *Azotobacter chroococcum* enthält, wird dagegen bereits nach kurzer Zeit getrübt, sobald noch andere Bakterien anwesend sind. Dieses Verhalten ist neben der mikroskopischen Prüfung ein ausgezeichnetes Merkmal, um die Reinheit von *Azotobacter*-Kulturen zu erkennen. Dieser von v. Freudenreich (21) und Lipman (27) bestätigten Beobachtung ist von Heinze (11) widersprochen worden, welcher *Azotobacter* in „Bouillonkulturflüssigkeiten“ ganz gut gedeihen sah, „zumal wenn man die verschiedenartigen Entwicklungszustände der *Azotobacter*-Organismen, sowie bestimmte Zusätze von besonderen Stoffen nicht außer Acht läßt“. Ich kann demgegenüber jedoch nur wiederholen, daß *Azotobacter chroococcum* in der genannten gewöhnlichen Peptonbouillon, wenn dieselbe die übliche Alkaleszenz von etwa 0,07 Proz. Soda aufweist, niemals zu deutlichem Wachstum kommt, daß daher Ueberimpfungen in diese Nährflüssigkeit eine rasche und einfache Orientierung über die Reinheit der Kultur gestatten. Die alleinige Anwendung von Peptonbouillon für diesen Zweck ist natürlich nicht ausreichend, besonders wenn die Anwesenheit anderer „bouillonsteriler“ Arten möglich erscheint. Hat man jedoch fortgesetzt zahlreiche *Azotobacter*-Kulturen auf Reinheit zu prüfen, dann ist die Peptonbouillon ein bequemes Hilfsmittel. Heinze (28) ergänzte später seine Angaben dahin, daß sich *Azotobacter* auffallend gut in etwas modifizierter Bouillon, sowie in Bierwürze, bei Zusatz von milchsaurem bzw. kohlen-saurem Kalk, entwickele. Der Kalk schien überhaupt bei der Kultur von *Azotobacter chroococcum*, vor allem auf festen Nährböden, eine wichtige Rolle zu spielen. Die Arbeit enthält nähere Angaben über eine Reihe von festen und flüssigen Nährsubstraten, auf welchen *Azotobacter chroococcum* zu mehr oder minder guter Entwicklung zu bringen ist. Daß auch die Qualität des vorhandenen Stickstoffs die Entwicklung von *Azotobacter*-Arten in verschiedener Weise beeinflusst, ist ebenfalls von Heinze (Referat über B. Schulze, Welchen Wert hat die in Wasser nicht lösliche Phosphorsäure des Doppelsuperphosphats. Centralbl. f. Bakt. Bd. X. p. 321) betont worden. v. Freudenreich (21) hat das Wachstum von *Azotobacter* auf stickstoffhaltigen Nährsubstraten näher untersucht. Er gibt an, daß auf Nähragar und Nährgelatine nur spärliche und langsame Vermehrung erfolgt. In Milchzuckerbouillon hat er gute Entwicklung der *Azotobacter*-Zellen beobachtet, niemals jedoch, wie erwähnt, in der gewöhnlichen Peptonbouillon. Ich habe freudiges Wachstum von *Azotobacter* in Nährlösungen mit nicht zu hohen Zusätzen von Natriumnitrat, Ammoniumsulfat und Pepton konstatieren können. Dies gilt jedoch nur für *Azotobacter*-Reinkulturen. Bei gleichzeitiger Anwesenheit nitrophiler Arten wird, wie schon eingangs erwähnt, seine Entwicklung auf solchen Nährsubstraten vollständig unterdrückt.

Bei der Prüfung von *Azotobacter chroococcum* auf sein Verhalten gegenüber anorganischen Pflanzennährstoffen ergab sich, daß Kalk und Phosphorsäure für die Entwicklung dieser Organismen unbedingt erforderlich sind. Fehlen diese Nährstoffe, oder auch nur einer von ihnen, dann tritt weder Wachstum noch Stickstoffsammlung

ein. Kali und Natron fördern die Entwicklung von *Azotobacter chroococcum* und daher auch die Festlegung von Stickstoff durch denselben, sie sind aber nicht unbedingt erforderlich, sondern können durch Kalk vertreten werden. Daher trat auch in Nährlösungen, welche frei von Kali und Natron waren, Wachstum von *Azotobacter* und Stickstoffsammlung ein [Gerlach und Vogel (15)]. Das Vorkommen von *Azotobacter chroococcum* im Meerwasser veranlaßte Keutner (23) zur Ausführung einiger Versuche über die Einwirkung verschieden großer Kochsalzmengen auf das Wachstum und die Stickstoffassimilation durch diese Mikrobenart. Es ergab sich, daß *Azotobacter* als eurhyaliner Organismus anzusehen ist. Er übt noch in einer Nährlösung, welche 8 Proz. Kochsalz enthält, stickstoffbindende Tätigkeit aus. Die große Bedeutung des Kalkgehaltes für die Entwicklung von *Azotobacter chroococcum* im Boden geht aus Versuchen Fischers (12) hervor. Er prüfte 6 in verschiedener Weise gedüngte, sonst gleichartige Parzellen auf Anwesenheit von *Azotobacter*, konnte seine Gegenwart jedoch nur in den beiden Bodenstreifen nachweisen, welche eine Düngung mit Aetzkalk erhalten hatten. „Wenn auch nicht bewiesen scheint, daß die übrigen Streifen gar keinen *Azotobacter* enthielten, so muß er doch dort sehr viel seltener und schwächer sein.“ Die günstige Wirkung des Kalkes kann in der Erschließung assimilierbarer Kohlenstoffverbindungen, oder in der Förderung der Humusbildung, zum Teil auch in der Auflockerung des Bodens ihren Grund haben. Vielleicht schaffen auch die auf den gekalkten Streifen sichtlich üppiger gedeihenden Algen für *Azotobacter* günstige Ernährungsbedingungen. Daß Kalk nicht nur auf die Stickstoffsammlung, sondern auf alle Bakterientätigkeit im Boden fördernd einwirkt, haben Wohltmann, Fischer und Schneider (26) bei Beschreibung ihres „spezifischen Düngungsversuches“ hervorgehoben. Heinze (28) macht Mitteilung von Versuchen, bei welchen in verschiedener Weise behandelte Erden in phosphorsäurefreie und in phosphorsäurehaltige Nährlösungen verimpft wurden. In den Nährmedien ohne Phosphorsäure und in denen, welche diese in der Form des Monokaliumphosphats enthielten, trat, von einem einzigen Fall abgesehen, keine *Azotobacter*-Vegetation auf.

Die Wirksamkeit<sup>1)</sup> von *Azotobacter chroococcum*, d. h. die Größe seiner stickstoffsammelnden Fähigkeiten, erfährt nach Gerlach und Vogel (15) mit zunehmendem Alter der Kulturen einen Rückgang, gleichzeitig nimmt die Empfindlichkeit gegen größere Mengen von Traubenzucker in den Kulturmedien zu. Das gleiche Quantum Traubenzucker (1,2 Proz.), welches eine frisch isolierte Kultur zur Aufnahme von 128 mg Stickstoff befähigte, schädigte eine 328 Tage alte, auf Glukoseagar weitergezüchtete Reinkultur derartig, daß sie nur noch 23,4 mg Stickstoff unter sonst gleichen Bedingungen aufnehmen konnte. Dieselbe Kultur assimilierte aber in der gleichen Zeit bei Anwesenheit von nur 8 g Traubenzucker 59,1 mg Stickstoff pro 1000 ccm Nährlösung.

So lange die stickstoffsammelnden Fähigkeiten der *Azotobacter*-Arten nicht gesteigert werden können, ist es unwahrscheinlich, daß die Bodenimpfung mit denselben zu irgend welchen Erfolgen beim

1) Mit Behrens, Hiltner und Löhnis stimme ich darin überein, daß mit Bezug auf Bodenbakterien der der medizinischen Bakteriologie entlehnte Ausdruck „Virulenz“ besser durch „Wirksamkeit“ zu ersetzen ist. Wenn ich ihn doch, besonders bei Besprechung der Stickstoffsammlung durch Knöllchenbakterien, zuweilen gebrauche, so geschieht dies, weil er in den betreffenden Originalarbeiten erwähnt ist.

Pflanzenbau führen kann. Bedenkt man ferner, daß die stickstoffsammelnde Kraft der hier in Betracht kommenden Organismen von dem Gehalt der Böden an stickstofffreier Kohlenstoffnahrung, also dem leicht aufnehmbaren, stickstofffreien Anteil der Humussubstanzen, abhängig ist, daß dieser Gehalt ohne Schaden für das Pflanzenwachstum durch Zugabe leicht assimilierbarer Kohlenstoffverbindungen jedoch nicht gesteigert werden kann, daß weiter der Luftstickstoff in einer für die Pflanzen nicht direkt aufnehmbaren Form gebunden, sondern erst durch die Tätigkeit bestimmter Gruppen anderer Bodenorganismen in eine solche übergeführt werden muß, so wird man einen Erfolg von derartigen Impfversuchen nicht erwarten können. Daher waren auch Gerlach und Vogel (14) von dem negativen Ergebnis einiger in dieser Richtung angestellter Versuche keineswegs überrascht. Gerlach (29) äußert sich in einem im Jahre 1902 in der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft gehaltenen Vortrage hierüber folgendermaßen: „Die Impfung mit stickstoffsammelnden Bodenbakterien kann doch wohl nur dann Aussicht auf Erfolg versprechen, wenn die betreffenden Lebewesen im Boden fehlen. Dies ist jedoch nicht der Fall. Ueberall stoßen wir auf ihre Tätigkeit und finden sie sowohl in den schweren, wie in den leichteren Böden, den dunklen wie den hellen. . . . Infolge der enormen Vermehrungsfähigkeit der Bakterien würden nur wenige Keime ausreichen, um die Ackerkrume mit den nützlichen Bakterien zu bevölkern, falls dieselben in ihrer Zahl zurückgegangen sein sollten, wenn nur die Bedingungen für ihre Entwicklung günstig sind. Und sind sie es nicht, so nützt auch eine Impfung nichts.“ Auch Koch (18) weist darauf hin, daß selbst wenn man im Besitz besonders stark stickstoffassimilierender Bakterien sein würde, doch nur dann ein Erfolg eintreten könnte, wenn man den eingepflichten Bakterien günstige Entwicklungsbedingungen zu schaffen vermag. Es wird aber schwierig sein, den frei lebenden stickstoffbindenden Bakterien eine Ueberlegenheit über die spontan im Boden bereits enthaltenen zu verschaffen. Durch Zusammenkultivierung mit anderen in stickstoffarmen Nährlösungen wachsenden Organismen (Schimmel- und Hefepilzen) gelingt das nach den Versuchen von Gerlach und Vogel (15) nicht. Hiltner (30) meint, daß man aus dem Boden sogenannter „ewiger Felder“, auf welchen seit einer Reihe von Jahren die gleiche Frucht in ununterbrochener Reihenfolge gebaut wird, wo also die Bedingungen für eine Anpassung der Bakterien an Boden und Pflanze gegeben sein müssen, wirksame Stickstoffsammler isolieren könnte. Die an eine solche Annahme geknüpften Hoffnungen scheinen sich aber ebenfalls nicht erfüllt zu haben. Remy (31) hat vergeblich versucht, einen bezüglich seiner Fäulniskraft und nitrifizierenden Fähigkeiten anormalen Boden durch Zufuhr der entsprechenden Organismen zu verbessern. Er ist daher der Ansicht, daß die Impfdüngung als selbständiges Hilfsmittel für gewöhnlich nur geringe Aussicht auf Erfolg bietet. Auch Ehrenberg (32) konnte durch Impfung mit Bodenbakterien selbst in Verbindung mit Kalk- und Mistgaben eine günstige Wirkung nicht erzielen. „Der Erfolg der Verwendung von Aetzkalk und Stallmist wurde durch gleichzeitige Bakteriengabe wesentlich nicht gehoben.“ An anderer Stelle hat Remy (33) der oben wiedergegebenen Auffassung auch bezüglich der Impfung mit stickstoffsammelnden Bakterien Ausdruck gegeben. „Nicht durch direkte Impfung wird sich im allgemeinen die stickstoffsammelnde Kraft des Bodens erhöhen lassen, sondern durch Zufuhr humusbildender Stoffe, durch Bodenkulturmaßnahmen, welche

deren Zersetzung beschleunigen, durch Begünstigung der Algen, welche aus Kohlensäure und Wasser eine Energiequelle für sich und mittelbar auch für alle übrigen Bodenorganismen bilden können.“

Remy betont häufig und nachdrücklich (z. B. 34), daß für das Bakterienleben im Boden in erster Linie das „Bodenklima“ maßgebend ist, d. h. die Gesamtheit der den Mikroorganismen in einem Boden gebotenen Lebensbedingungen. Für die landwirtschaftliche Praxis ist es daher von größter Bedeutung, die Maßnahmen kennen zu lernen, durch welche sich das Bodenklima den Bedürfnissen der stickstoffsammelnden Bakterien am besten anpassen läßt. Hiltner (35) weist bei seinen geistvollen Ausführungen über die Bedeutung der „Rhizosphäre“, d. h. der Einflußsphäre der Pflanzenwurzeln, auf welche ich später noch eingehender zu sprechen komme, darauf hin, daß bei der Bodenimpfung mit stickstoffsammelnden Bakterien vielleicht Erfolge zu erzielen sind, wenn man dem Boden gleichzeitig Organismen zuführt, die den der Stickstoffassimilation ungünstigen Salpeter- und Ammoniakstickstoff festlegen. Die Ernährung der Pflanze wird überhaupt sehr wesentlich von der Zusammensetzung der Bakterienflora in der Rhizosphäre abhängig sein, und das weitere Studium dieses Gebietes kann sehr wohl auch in der Frage der Bodenimpfung mit Bakterienreinkulturen weitere Fortschritte bringen.

Außer in den angeführten Veröffentlichungen ist die Bedeutung und der eventuelle Erfolg einer Boden- oder Saatgutimpfung mit frei lebenden stickstoffsammelnden Bakterien in allgemeinerer Form besprochen worden von Behrens (36), Hiltner (37), Buhlert (38), Muth (39) u. a.

Wie in künstlichen Nährlösungen, so müssen die stickstoffbindenden Bakterien auch im Boden organisches Nährmaterial zur Verfügung haben. Dieses steht ihnen in humosen, an Kohlehydraten reichen Böden in größeren Mengen zu Gebote, daher ist auch in derartigen Böden die Stickstoffsammlung am größten. Solche günstigen Verhältnisse liegen z. B. bei humosen Wiesenböden vor [Stutzer (40)], in welchen daher auch eine durch die Erfahrungen der Praxis bestätigte erhebliche Stickstoffsammlung vor sich geht. Daß Humusstoffe tatsächlich von den Azotobacter-Arten bis zu einem gewissen Grade ausgenutzt und verarbeitet werden können, ist durch Heinze (11) experimentell erwiesen worden. Remy (33) hat berechnet, daß bei einem im Mittel 2 Proz. Humus enthaltenden Boden den Azotobacter-Arten etwa 6000 kg organische Substanz pro Hektar zugänglich sein werden, daß sie demnach beim Verbrauch dieses Nährstoffkapitals etwa 48 kg Stickstoff pro Jahr und Hektar sammeln könnten, wenn man nach den Ergebnissen von Laboratoriumsversuchen annimmt, daß bei der Bindung von 8 Teilen Stickstoff 1000 Teile organische Substanz verbraucht werden. Ausführlichere Angaben über die Bedeutung der Menge und der mehr oder minder leichten Zersetzbarkeit der Humussubstanzen für das Bakterienleben im Boden finden sich bei Ehrenberg (32). Hiltner (35) würdigt die große Bedeutung des Humus mit folgenden Worten: „Auf alle Fälle weisen alle Fortschritte in der Bodenbakteriologie mehr und mehr auf die große Bedeutung des Humus hin. Hat man in den letzten Jahrzehnten seine physikalische und chemische Wirkung wieder mehr schätzen gelernt, pries ihn erst vor kurzem wieder F. Arndt als den unentbehrlichen Vermittler im Boden für eine „richtige Verdaulichkeit“ der künstlichen Nährstoffe, als den Ausgleicher aller Extreme im Boden, Hitze und Kälte, Nässe und Trockenheit, so gesellt sich zu dieser

Würdigung nunmehr durch die Bodenbakteriologie die Erkenntnis, daß der Humus den meisten Bodenorganismen erst die Entwicklungsmöglichkeit bietet, daß er in seinem Kohlenstoffvorrat den Organismen die nötige Energie liefert, die vielen Prozesse einzuleiten und durchzuführen, die wir kennen gelernt haben.“

Daß die Stickstoffbindung im Boden durch energische Luftzufuhr gefördert wird, ist eine allgemein anerkannte, vielfach, z. B. von Krüger und Schneidewind, Dehérain, Tacke, auch experimentell erwiesene Tatsache. Koch (19) hat bei einer größeren Anzahl von Versuchen durch häufiges Umschäufeln des Bodens denselben zur Hervorbringung größerer Erntemengen befähigt und die dabei eintretende Zunahme des Stickstoffgehaltes analytisch bestimmt. Dieselbe schwankte bei Bodenproben, die aus verschiedenen Tiefen entnommen waren, zwischen 0,017 und 0,035 Proz. Gerlach und Vogel (14) reicherten einen an sich stickstoffhungrigen Boden durch bloßes Umschäufeln während des Winters derartig mit Stickstoff an, daß er auf Stickstoffdüngung nicht mehr reagierte.

Die Bakterienarten, welche *Azotobacter chroococcum* in den bei der Aussaat von Erde in stickstoffarme Nährlösungen heranwachsenden Rohkulturen gewöhnlich begleiten, sind von Beijerinck und van Delden (10) näher studiert worden. Danach scheint es, als ob diese Bakterienflora im allgemeinen eine ziemlich konstante Zusammensetzung aufweist, da bestimmte Arten stets wieder auftauchen. Von den nicht sporenbildenden Begleitern von *Azotobacter chroococcum* wurde einer bestimmten, *Bac. radiobacter* genannten Art besondere Bedeutung beigelegt. Diese Art gehört zu den von Beijerinck und van Delden für die Stickstoffassimilation durch *Azotobacter* für notwendig gehaltenen Symbionten. Außer *Radiobacter* sollen der ebenfalls stets sich vorfindende, nicht sporenbildende *Aërobacter aërogenes* (*Bac. lactis aërogenes*) und mehrere Arten des sporenbildenden *Granulobacter* (siehe Beijerinck, *Sur la fermentation et les ferments butyliques*. Arch. Néerlandaises. T. XXIX. 1896. p. 10) *Azotobacter chroococcum* zur Bindung von Stickstoff befähigen. Von Interesse ist, daß Beijerinck und van Delden die Anwesenheit von *Azotobacter chroococcum* für das Zustandekommen einer nennenswerten Stickstoffbindung auch dann für notwendig halten, wenn die Versuchsbedingungen für die Entwicklung der anaëroben Clostridien besonders günstig waren. Sie stimmen der Winogradskyschen Ansicht nicht zu, daß in solchen Fällen aërobe Organismen durch Sauerstoffentzug für das eigentliche stickstoffbindende Agens — *Clostridium Pasteurianum* — die erforderlichen Entwicklungsbedingungen schaffen, sondern sie halten es zur Erzielung höherer Stickstoffwerte für unbedingt erforderlich, daß sich *Azotobacter chroococcum* in den Rohkulturen vorfindet. Die *Granulobacter*-Arten und Buttersäurefermente sind für sich allein im stande, Stickstoff zu assimilieren, doch erreicht eine solche Stickstoffsammlung niemals die Höhe, als bei Anwesenheit von *Azotobacter*.

Wodurch sich die bei den zahlreichen von Beijerinck und van Delden ausgeführten quantitativen Bestimmungen der gesammelten Stickstoffmenge hervorgetretene Ueberlegenheit der Roh- und Mischkulturen vor den *Azotobacter*-Reinkulturen erklärt, ist schwer zu ergründen. Ich möchte hier nur darauf hinweisen, daß diese Forscher auch in der nach ihren Untersuchungen günstigsten Kombination von



*Azotobacter chroococcum* + *Granulobacter* + *Radiobacter* nur einen Gewinn von 7 mg Stickstoff pro 1000 mg assimilierten Zuckers erzielen. Sie erblicken das Hauptresultat ihrer Untersuchungen in dem Nachweis, daß bei der Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien zunächst eine lösliche Stickstoffverbindung entsteht, welche sich außerhalb der aktiven Organismen in der Umgebung verbreitet, und dort auch für andere Mikroorganismen erreichbar wird. Diese in ihrer chemischen Natur noch nicht erkannte Verbindung wird von den erzeugenden Arten nur schwierig, von *Azotobacter chroococcum* dagegen sehr leicht aufgenommen und für das Wachstum verwendet. Beijerinck hat sich seit dieser vom 14. Juni 1902 datierten Veröffentlichung nicht mehr über die hier in Betracht kommenden wichtigen Fragen geäußert. Beigepflichtet hat ihm meines Wissens bisher nur Chester (20), welcher bei einer aus Boden von Delaware isolierten Form von *Azotobacter* die Fähigkeit, in Reinkultur Stickstoff zu sammeln, nicht feststellen konnte.

Von verschiedenen Seiten ist auch der Versuch gemacht worden, Erden verschiedener Herkunft auf ihre stickstoffsammelnde Kraft dadurch zu prüfen, daß man sie in bestimmten Mengen in stickstoffarme Nährlösungen aussäte und die Zunahme an Stickstoff nach einer gewissen Zeit ermittelte. Bei diesen Versuchen handelt es sich also gewissermaßen um Stickstoffzunahmen in Rohkulturen. Ehrenberg (32) hat 5 verschiedene Erden nach dieser Richtung untersucht und bemerkenswerte Unterschiede in der Stickstoffsammlung feststellen können. Weitergehende Schlüsse will er aus seinem noch sehr lückenhaften Material nicht ziehen. Löhnis (25) machte die Erfahrung, daß es bei Ermittlung der stickstoffbindenden Kraft eines Bodens zweckmäßig ist, nicht zu kleine Mengen der betreffenden Erde zur Aussaat zu verwenden. Wurden die Nährlösungen mit weniger als 0,1 g Erde geimpft, dann trat nur sporadisch die Entwicklung stickstofffixierender Bakterien ein, während sie bei Anwendung größerer Mengen der gleichen Erde niemals ausblieb. Heinze (28) schließt sich den Löhnisschen Ausführungen im allgemeinen an, betont jedoch, daß das bei Anwendung sehr geringer Bodenmengen zuweilen ausbleibende Wachstum von *Azotobacter* nicht etwa auf ein Fehlen von *Azotobacter*-Zellen in solchen kleinen Erdmengen zurückzuführen sei, sondern daß es einzig und allein dadurch erklärt werden müsse, daß die *Azotobacter*-Organismen unter solchen Umständen nicht die Bedingungen für ihre gedeihliche Entwicklung vorfinden. Es geht dies auch daraus hervor, daß bei Ueberimpfungen aus solchen nicht angegangenen Kulturen in geeignete Nährmedien stets die Entwicklung von *Azotobacter* erfolgt.

Daß *Azotobacter chroococcum* imstande ist, für sich allein, ohne Mitwirkung irgendwelcher Begleitbakterien, also in Reinkultur den freien Stickstoff zu binden, ist zuerst einwandfrei durch Gerlach und Vogel (14) erwiesen worden. Weiter haben besonders Koch und Kröber (18 und 19), v. Freudenreich (21), Keutner (23) und Heinze (11) die Assimilation erheblicher Stickstoffmengen durch *Azotobacter chroococcum* in Reinkultur durch exakte Versuche erwiesen, so daß hieran wohl nicht mehr gezweifelt werden kann. Lipman (27) hat eine, von ihm *Azotobacter Vinelandii* genannte, dem Beijerinckschen *Azotobacter chroococcum* sehr ähnliche Organismenart näher studiert und in zahlreichen Versuchen mit Sicherheit festgestellt, daß auch dieser Organismus in Reinkultur den atmosphärischen



Stickstoff zu binden vermag. Bei gleichzeitiger Anwesenheit bestimmter anderer Bakterienarten wurden allerdings unter Umständen beträchtlichere Stickstoffmengen fixiert.

Es fehlt auch nicht an Versuchen, die Zahl der in einem bestimmten Boden enthaltenen Azotobacterzellen direkt zu bestimmen. Da diese Organismen auf den gewöhnlichen stickstoffreichen festen Nährböden nicht oder nur kümmerlich gedeihen, bzw. sehr rasch von anderen Arten überwuchert werden, können die gewöhnlichen Verfahren der Bakterienzählung hier nicht in Betracht kommen. Hiltner und Störmer (41) ermitteln die Zahl der auf Gelatine nicht wachsenden Bodenbakterien durch Kultivierung in flüssigen, elektiven Nährsubstraten, welche vorherrschend den Stoff enthielten, an welchem sich die spezifische Funktion betätigen sollte, unter gleichzeitiger stufenweiser Verdünnung. Es ergab sich so schließlich dasjenige Quantum Erde, welches mindestens noch einen Keim der betreffenden Art enthielt.

Löhnis (25) ist allerdings der Meinung, daß dieses Verfahren nicht einmal eine „näherungsweise“ Zählung der physiologisch wichtigen Bakterienarten erlaubt, weil diese in ihrer Wirksamkeit sehr verschieden sein können, daher unter Umständen durch eine geringe Anzahl von Individuen bedeutendere Wirkungen hervorgerufen werden können, als durch eine größere Anzahl weniger wirksamer Organismen der gleichen Art. In einer späteren Mitteilung vervollständigt und ergänzt Löhnis (42) das hier Gesagte und geht eingehend auf die Mängel der Bakterienzählungsverfahren, speziell der Hiltnerschen Verdünnungsmethode, ein. Er verweist auf den sehr berechtigten, von Behrens (43) zuerst geäußerten Einwand, daß bei der großen Mehrzahl derjenigen Bakterien, welche an und für sich in Plattenkulturen wachsen könnten, die Entwicklung ausbleibt, weil sie bereits bei der Verdünnung des Bodens mit Wasser oder bei der Uebertragung auf Nährgelatine zu Grunde gehen, infolge der Aenderung insbesondere der osmotischen Verhältnisse. Löhnis steht auf dem Standpunkt, daß nur auf dem von Remy (31) zuerst beschrittenen Wege der Ermittlung des durch eine bestimmte Erdmenge in zweckentsprechend zusammengesetzten Lösungen hervorgerufenen Effektes Resultate erlangt werden können, welche erkennen lassen, wie die gebräuchlichen Maßnahmen der Bodenbearbeitung und Düngung auf die landwirtschaftlich wichtigen Bakterien, bzw. auf die durch diese veranlaßten Umsetzungen, einwirken. Aber auch dieses Untersuchungsverfahren liefert nur dann brauchbare Ergebnisse, wenn es mit strengster Kritik unter Berücksichtigung aller im gegebenen Falle vorliegenden Verhältnisse gehandhabt wird.

Heinze (11), welcher eine direkte Zählung der Azotobacterzellen im Boden auf Grund ihrer Braunrotfärbung mit Jodlösung, analog der Hefezählung in gärenden Würzen und Maischen, ermöglichen will (28), schließt aus manchen Beobachtungen, daß die Zahl der Azotobacter-Organismen in Bracheparzellen eine viel größere ist und etwa das 5—6-fache derjenigen im gleichen, aber nicht gebrachten Boden beträgt.

Wenn nach alledem die Azotobacter-Arten zur Zeit wohl als die wichtigsten und am genauesten bekannten stickstoffbindenden Bodenorganismen bezeichnet werden können, so sind sie doch keineswegs die einzigen mit dieser bedeutsamen Fähigkeit ausgestatteten Bodenbewohner. Beijerinck und van Delden (10) haben z. B. für eine ganze Anzahl

von *Azotobacter* verschiedener Mikroben eine gewisse Verwertungsfähigkeit für freien Stickstoff erwiesen. Neumann (44) suchte zu ermitteln, ob die in nächster Nähe der Wurzelknöllchen von Leguminosen im Boden befindlichen Bakterien, oder die auf dem oberirdischen Kraut sich vorfindenden Arten die Fähigkeit, Stickstoff zu sammeln, aufweisen. Für diese Versuche erschienen ihm bestimmte, an assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen arme Nährböden, besonders geeignet. Solche Nährsubstrate infizierte Neumann mit Impfflüssigkeiten, welche Bakterien der oben bezeichneten Art enthalten mußten, und er erzielte in seiner aus grünen Pflanzenteilen hergestellten Nährlösung Stickstoffgewinne bis zu etwa 50 mg pro 100 ccm. In einem aus Torfmull bereiteten Nährsubstrat trat keine, in einem aus Wurzelextrakt hergestellten sehr geringe Stickstoffvermehrung ein.

Winogradsky (17) bringt ausführliche Mitteilungen über die Morphologie und das kulturelle Verhalten seines im Jahre 1895 zuerst näher beschriebenen *Clostridium Pasteurianum*. Er beschreibt 8 durch Abbildungen erläuterte Entwicklungsstadien dieses Organismus. Die sämtlichen Keimungsbilder können in entsprechend behandelten Kulturen nebeneinander beobachtet werden. Die Teilung der jungen Stäbchen, ihre Verwandlung in die Clostridienform und der Sporenbildungsprozeß verlaufen ebenso wie bei den artverwandten Buttersäurebildnern, dagegen treten bei der Sporenreife ganz charakteristische Besonderheiten hervor. „Differenzierung der Mutterzelle zu einer Sporenkapsel, die ‚Öffnung‘ derselben, der Bau der Spore und der eigentümliche, durch diesen Bau bedingte Keimungsprozeß.“ Bei ganz jungen Stäbchen ist zuweilen Eigenbewegung unter starker Rotation des einen Körperendes zu beobachten. Spindelförmige Individuen bewegen sich seltener, noch seltener bereits sporogene Körner tragende. Die Schwärmfähigkeit ist, obgleich sicher vorhanden, doch eine sehr begrenzte. Der beschriebene Entwicklungsgang ist beim Wachstum von *Clostridium Pasteurianum* in Mischkultur mit aeroben Arten besonders deutlich zu beobachten. Bei der Entwicklung von Reinkulturen unter anaeroben Bedingungen und bei Anwesenheit von Stickstoff in gebundener Form sehen die verschiedenen Wuchsformen meistens etwas anders aus. Es treten dann abnorme Bildungen auf, die Clostridien- und Sporenbildung tritt zurück, und es können schließlich gänzlich asporogene Mikroorganismen resultieren, die die Fähigkeit zur Sporenbildung nicht wieder gewinnen. Die so erhaltene „abgeschwächte“ Varietät hat das Vermögen, Gärungen und Stickstoffbindung zu bewirken, verloren. *Chlostridium Pasteurianum* erfährt also unter Bedingungen, welche sonst für die Entwicklung von Buttersäurefermenten sehr günstig sind, eine rasche Degeneration, welche von Winogradsky auf eine schädigende Einwirkung der vorhandenen Stickstoffverbindungen zurückgeführt wird.

Winogradsky beschreibt sein Vorgehen bei der Züchtung von *Chlostridium Pasteurianum* auf verschiedenen Nährböden. Bei Anwesenheit aerober Organismen erfolgt auch bei Luftzutritt eine üppige Vermehrung von *Clostridium Pasteurianum*. Es ist interessant, daß auch Winogradsky der Natur dieser begleitenden Arten große Bedeutung beilegt und betont, daß die Intensität der Stickstoffsammlung von diesen begleitenden Arten stark beeinflußt wird. „Bei Impfung mit Erde in die geeignete Nährlösung stellt sich oft das passendste Mikrobengemenge von selbst ein.“

Das *Clostridium Pasteurianum* wurde ganz regelmäßig in Petersburger, sowie in Pariser Erde aufgefunden, nicht aber in Bodenproben aus Südrußland, Podolien und Wolhynien. In diesen Böden wuchsen unter sonst gleichen Kulturbedingungen Clostridien heran, die sich durch die erheblichere Größe der Zellen, durch die in aërober gemischter Kultur häufig ausbleibende Sporenbildung und durch die Unfähigkeit auf festen Substraten zu wachsen auszeichneten. Daher konnte auch diese „*Clostridium* aus Wolhynien“ genannte Art bisher nicht in Reinkultur gewonnen werden. Sie assimiliert nach Versuchen von Omeliansky wie das *Clostridium Pasteurianum* etwa 2 mg Stickstoff bei Verbrauch von 1 g Dextrose.

In Deutschland ist das *Clostridium Pasteurianum* nach Angaben von Behrens im Kalkgestein des badischen Taubertales, von Jacobitz (45) in Gartenerde des hygienischen Instituts Halle gefunden worden. Benecke und Keutner (22) fanden diesen Organismus im Schlick und häufig im Plankton der Ostsee, vielfach vergesellschaftet mit einer, sich durch ihre außerordentliche Größe auszeichnenden, *Clostridium giganteum* genannten, anscheinend ebenfalls stickstoffsammelnden Art. v. Freudenreich (21) hat ein dem Winogradskyschen *Clostridium Pasteurianum* sehr ähnliches, jedoch Mannit vergärendes *Clostridium* aus dem Boden seines Versuchsfeldes in Bern isoliert. Süchting (46) fand auf abgestorbenen Blättern verschiedener Waldbäume Bakterien, welche mit *Clostridium Pasteurianum* nahe verwandt und den freien Stickstoff der Luft in erheblichem Maße in gebundene Form überzuführen imstande sind.

Winogradsky konstatierte beim näheren Studium des durch *Clostridium Pasteurianum* bei Anwesenheit verschiedener Kohlenstoffquellen ausgelösten Gärungsprozesses, welcher stets mit Stickstoffassimilation verbunden ist, deutliche Verschiedenheiten von den durch andere Buttersäurefermente bewirkten Gärungen. *Clostridium Pasteurianum* kann nur Dextrose, Lävulose, Rohrzucker, Inulin, Galaktose und Dextrin vergären, und läßt zahlreiche gärfähige Substanzen, wie Stärke, Laktose, Mannit, Glycerin, Calciumlaktat, die durch die gewöhnlichen Buttersäurebildner energisch vergoren werden, unberührt. Die von *Clostridium Pasteurianum* gebildeten Spaltungsprodukte sind im wesentlichen Buttersäure, Essigsäure, Kohlensäure und Wasserstoff. Auf die Fettsäuren entfallen dabei 42—45 Proz. des vergärenden Zuckers, der Rest wird vergast.

*Clostridium Pasteurianum* stellt mithin eine streng anaërobe, auch in vollkommenen stickstofffreien Nährmedien gedeihende, sowohl morphologisch wie physiologisch von den übrigen Buttersäurefermenten sich unterscheidende Art dar.

In den von Benecke und Keutner (22) aus Ostseeschlick erhaltenen Rohkulturen war das *Clostridium Pasteurianum* häufig mit einem aëroben, auf gewöhnlichen Nährböden wachsenden *Bacillus* vergesellschaftet, welcher nachweislich die geringen in den Nährböden enthaltenen Stickstoffmengen zuerst aufbrauchte, sich hierbei üppig vermehrte und so die Bedingungen für eine kräftige Entwicklung des *Clostridium*s schuf, von welchem er im späteren Stadium ganz unterdrückt wurde.

Auch der bakteriologische Impfdünger Alinit hat wieder Veranlassung zu einer Anzahl von Untersuchungen gegeben. Das Interesse

an ihm ist allerdings in den letzten Jahren mehr und mehr geschwunden, da man seine Wirkungslosigkeit auf den meisten Böden immer deutlicher erkannte. Die mit großer Sorgfalt ausgeführten Untersuchungen von Schulze (47) haben wohl auch die trotz der früheren zahlreichen Mißerfolge noch verbliebenen Anhänger des Alinit davon überzeugt, daß dieses Präparat die ihm zugeschriebenen Fähigkeiten nicht besitzt.

Bei Versuchen zur Kultivierung des im Alinit enthaltenen Mikroorganismus in stickstofffreien Nährlösungen konnte niemals nennenswertes Wachstum oder Stickstoffsammlung nachgewiesen werden. Jacobitz (45) schließt allerdings aus seinen Versuchen, daß der Caronsche Bacillus in künstlichen Nährmedien Stickstoff zu binden vermag, „jedoch nur in so geringem Grade, daß es mindestens zweifelhaft ist, ob seine Wirksamkeit bei einer Anreicherung des Luftstickstoffes im Boden überhaupt mit in Betracht kommt.“ Auf den gewöhnlichen stickstoffhaltigen Nährböden wächst der Alinitbacillus ausgezeichnet, jedoch ist auch das in diesen Fällen erfolgende üppige Wachstum niemals mit einer Stickstoffsammlung verbunden.

Die umfangreichen Vegetationsversuche Schulzes sind unter Berücksichtigung aller erforderlichen Kautelen angestellt worden, auch auf die von Stoklasa, dem treuen Anhänger des Alinit, vorgeschriebenen Versuchsbedingungen wurde Rücksicht genommen. Die Versuche wurden teils in Gefäßen, teils auf freiem Lande ausgeführt, die ersteren wiederum zum Teil in besonderen Vegetationsapparaten unter möglichst ausschließlicher, alleiniger Einwirkung des Alinit auf die Pflanzen, zum Teil in Vegetationsgeräten der gewöhnlichen Art, also ohne Ausschluß der im Boden ohnehin enthaltenen Mikroorganismen. In allen Fällen zeigte es sich in überzeugender Weise, daß der Alinitbacillus unter keinen Umständen etwa vorhandenem Stickstoffmangel abzuhelpen vermag. Er hat in keinem Falle „irgend eine, in der deutlichen und zweifellosen Erhöhung der Ernte zum Ausdruck kommende Wirkung“ geäußert. Das Gesamtergebnis der Schulzeschen Versuche ist also in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Lauck, Gerlach, Krüger und Schneidewind u. a. ein vollkommen negatives. Die Schulzeschen Versuche gewinnen noch an Interesse dadurch, daß neben anderem auch Ellenbacher Boden, aus welchem bekanntlich die Alinitbacillen stammen, verwendet wurde. Auch in diesem Boden trat keine erntesteigernde Wirkung dieser Organismen hervor. Der nach Stoklasas späteren Angaben vorgenommene Zusatz von Kohlehydraten hat, wie zu erwarten war, Erntedepressionen zur Folge gehabt, hervorgerufen durch Vorgänge der Denitrifikation oder Eiweißbildung, event. auch durch direkte schädigende Einwirkung der Kohlehydrate und ihrer Zersetzungsprodukte. Man wird dem Alinit nicht unrecht tun, wenn man mit Rücksicht auf die nicht anzuzweifelnden Erfolge Carons annimmt, das dieser Organismus nur unter ganz bestimmten, allerdings selten vorliegenden Bodenverhältnissen eine ernteerhöhende Wirkung auszuüben vermag.

Zu der Frage, ob der im Alinit enthaltene Mikroorganismus eine selbständige Art darstellt, liegen einige Meinungsäußerungen vor. Hiltner (30) stimmt Kolkwitz und Hartleb bei, daß der *Bac. ellenbachensis*  $\alpha$  weder mit *Bac. subtilis* noch mit *Bac. megatherium* identisch sei. Auch Jacobitz (45) hält ihn für eine besondere, in die Heubacillengruppe gehörige Art. Heinze (48) kommt

zu dem gleichen Ergebnis. Er gibt eine sehr ausführliche Darstellung der sämtlichen bisher über die Identität des *Alinitbacillus* gewonnenen Untersuchungsergebnisse und ergänzt dieselben durch eigene umfangreiche Prüfungen dieses Organismus und der ihm im morphologischen, kulturellen und physiologischen Verhalten nahestehenden Mikroben. Er rechnet den *Alinitbacillus* auf Grund seiner charakteristischen Eigenbewegung, des Aussehens der Kolonien, der Hautbildungen, sowie der Reduktions- und Fermentwirkungen zur Gruppe der *Heubacillen* und schlägt vor, ihn in diese Gruppe unter Beibehaltung des bisherigen Namens, *Bac. ellenbachensis*  $\alpha$  Caron, als selbständige Art aufzunehmen. Severin (49) isolierte aus dem käuflichen Alinit 2 durch ihr Verhalten gegen Nitrate sich voneinander unterscheidende peptonisierende Bakterienarten, die weder mit *Bac. megath.* noch mit *Bac. subtilis* identisch waren. Severin meint, daß diese beiden Organismen verschiedene Varietäten ein und derselben Art darstellen. Sie sind sich morphologisch und kulturell außerordentlich ähnlich, unterscheiden sich aber dadurch, daß die Kultur  $\alpha$  Nitrate reduziert, während  $\beta$  dieselben nicht angreift. Bei dieser Gelegenheit macht Severin auch Mitteilung von einem vollständig negativ verlaufenen Impfversuch mit Alinit zu Hafer auf Freilandparzellen.

Jacobitz (50) hat eingehende Untersuchungen speziell über die Frage angestellt, ob *Bac. ellenbachensis* in künstlichen Nährmedien den atmosphärischen Stickstoff tatsächlich zu binden vermag. Er impfte mit größter Sorgfalt aus chemisch reinen stickstofffreien Salzen und über Kaliumpermanganat destilliertem Wasser hergestellte Dextrose- und Mannitnährlösungen, sowie sehr verdünnte, ohne Zusatz von Pepton und Kochsalz gewonnene Bouillon mit Reinkulturen des *Alinitbacillus* und bewahrte die Kulturen unter Durchleiten entsprechend gereinigter Luft längere Zeit auf. Die Bakterien gediehen am besten in der Beijerinckschen Mannitlösung, weniger gut in der nach Winogradskys Angaben bereiteten Dextroselösung, und am schwächsten in der verdünnten Bouillon. Neben *Bac. ellenbachensis* wurden auch *Bac. megath.* und *Bac. subtilis* in der gleichen Weise kultiviert, und durch Analyse der Kulturen auf Stickstoffsammelungsvermögen geprüft. Jacobitz erzielte bei Anwendung von 50 ccm Nährlösung bei *Bac. subtilis* keine nachweisbare Stickstoffaufnahme, bei *Bac. megath.* betrug sie im besten Falle 1,5 mg, bei *Bac. ellenb.* in einem Falle 2,4, sonst jedoch nur 1,1–1,6 mg. Diese Mengen sind so außerordentlich gering, daß man mit Rücksicht auf die allerdings nach Möglichkeit vermiedenen, aber doch immerhin nicht vollständig auszuschließenden Fehlerquellen, aus ihnen wohl kaum auf eine, durch die genannten Bakterienarten bewirkte Stickstoffsammlung schließen darf. Jacobitz führt die geringen Stickstoffgewinne allerdings auf Stickstoffbindung durch die betreffenden Mikroben zurück, gibt aber doch zu, daß seine Versuche einen bindenden Beweis für die besondere, dem *Bac. ellenb.* zugeschriebene Rolle in der praktischen Landwirtschaft nicht erbracht haben.

Daß Bodenimpfungen mit beliebigen Bakterienarten zuweilen Ertragssteigerungen hervorbringen können, geht aus einigen Versuchen Hiltners (30) hervor. Ich erwähne z. B. einen in Thüringen mit Hafer auf schwerem Boden ausgeführten Feldversuch, bei welchem außer mit Alinit mit 4 von diesem verschiedenen Reinkulturen (a–d) Impfungen ausgeführt wurden. Das Ergebnis war:

4\*

	Gedüngt mit	Geimpft mit				
	Chilisalpeter	Alinit	a	b	c	d
Stroh	48	36	41,5	42,5	36,75	41
Körner	23	17	22	24,5	22	23
Summa kg pro ar	71	53	63,5	67	58,75	64

Die Hiltnerschen Reinkulturen zeigten demnach eine deutlich ertragssteigernde Wirkung und waren hierin dem Alinit bedeutend überlegen. Unter den wirksamen Kulturen befand sich seltsamerweise auch eine denitrifizierende Bakterienart. Einer Verallgemeinerung sind diese vereinzelt, nicht näher erforschten Erfolge natürlich nicht fähig. Auch Gerlach und Vogel (14) haben bei Verwendung von Senf als Versuchspflanze in einem Falle eine in Betracht kommende Ertragssteigerung durch Bodenimpfung erzielt, führen aber dieses vereinzelt dastehende Ergebnis auf einen Zufall zurück. Wahrscheinlich ist die Hiltnersche Auffassung richtig, daß jede beliebige, dem Boden eingepfimte Bakterienart, wenn sie nur die Bedingungen zu ihrer Entwicklung findet, einen Einfluß auf das Pflanzenwachstum ausübt. Dabei ist es durchaus nicht notwendig, daß dieser Einfluß immer ein günstiger sei. Vielleicht beruht eine derartige Impfwirkung auf einer Störung des für gewöhnlich bestehenden Gleichgewichtszustandes der den Boden bewohnenden Mikroben. Nach Hiltners Darlegungen hat man sich unter der Ackergare etwa das dem Gleichgewichtszustande entgegengesetzte Stadium vorzustellen. Auch die bekannte günstige Einwirkung des Schwefelkohlenstoffs auf die Ertragsfähigkeit des Bodens beruht im wesentlichen auf einer Störung des Ruhezustandes der Bodenbakterien, gewissermaßen auf einer beschleunigten Herbeiführung der Ackergare. Remy (33) hält es ebenfalls bezüglich der Ackergare für erwiesen, „daß dieser Bodenzustand mit einem der Zahl nach bedeutenden Organismenbestand Hand in Hand geht“. Hiltner und Störmer (41) sprachen später die Vermutung aus, daß die Ackergare der starken Vermehrung ganz bestimmter, auf Gelatine nicht wachsender Organismen ihre Entstehung verdankt.

Aus zahlreichen Beobachtungen geht hervor, daß durch Behandlung von Boden mit chemischen Mitteln, also auch durch Zufuhr aller Düngestoffe, Änderungen in dem Bakterienbestande eintreten können, welche einerseits in der Zurückdrängung, andererseits auch in einer starken Vermehrung bestimmter Gruppen zum Ausdruck kommt. Genauer studiert ist in dieser Richtung die bereits oben erwähnte Einwirkung des Schwefelkohlenstoffs auf die Bakterienflora des Bodens. Hiltner und Störmer (41) stellten fest, daß durch die Schwefelkohlenstoffbehandlung eine erhebliche Störung im Gleichgewicht der Arten eintritt, welche sich zunächst in einem Rückgange, dann in einem rapiden Anstieg der Bakterienzahl bemerkbar macht. Besonders die Gruppe der Gelatine nicht verflüssigenden Bakterienarten erfährt in dieser Periode eine starke Vermehrung. Durch diese gesteigerte Bakterientätigkeit werden wahrscheinlich größere Mengen Stickstoff durch Aufschließung oder Assimilation den Pflanzen zugänglich. Moritz und Scherpe (51) kommen ebenfalls zu dem Resultat, daß die günstige Einwirkung des Schwefelkohlenstoffs auf das Pflanzenwachstum auf die Förderung bestimmter biologischer Vorgänge im Boden zurückzuführen ist. Sie schließen aus ihren umfangreichen Versuchen, daß der Schwefelkohlenstoff die Bakterienflora des Bodens in ganz be-

stimmter Weise beeinflußt, und daß das hauptsächlichste Resultat dieser Einwirkung in einer Förderung der Stickstoffernährung zum Ausdruck kommt. An dieser Stelle sei auch erwähnt, daß Nobbe und Richter (52) eine sehr günstige Einwirkung von Aether, Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Benzol und Wasserstoffsuperoxyd auf das Pflanzenwachstum, speziell auch auf die Entwicklung der Knöllchenbakterien, beobachteten. Bei einem Gefäßversuch mit Hafer ergaben sich, wenn der mittlere Ertrag an Trockensubstanz der nicht behandelten Gefäße = 100 gesetzt wird, die folgenden Ernteerträge: Aether 131, Chloroform 142, Benzol 156 und Schwefelkohlenstoff 158. Eine Aufschließung der Bodenbestandteile durch die genannten Reagentien konnte nicht nachgewiesen werden, die Verfasser neigen zu der Annahme, daß eine direkte Reizwirkung geringer, in dem Boden verbliebener Mengen der Zusatzstoffe, bzw. von Zersetzungsprodukten derselben auf die wachsende Pflanze stattfindet.

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Die Zersetzung der Fette.

Von Dr. Otto Rahn.

Die drei großen Nährstoffgruppen — Eiweiße, Fette und Kohlehydrate — welche die Hauptmasse der gesamten organischen Substanz ausmachen, sind wohl in annähernd gleich großen Mengen auf unserer Erde vorhanden. Von diesen Substanzen gelangt ein großer Teil durch die absterbenden Organismen in den Erdboden und wird dort mehr oder weniger rasch zu den einfachsten Verbindungen, Kohlensäure, Wasser und Ammoniak bzw. Salpetersäure abgebaut. Diese Zersetzung wird fast ausschließlich durch niedere Pilze bewirkt, und über die Zersetzung von Eiweißen und Kohlehydraten durch Bakterien existiert eine außerordentlich umfangreiche Literatur; die Fette sind bisher sehr stiefmütterlich behandelt worden. Ausführlichere Untersuchungen liegen bisher nur da vor, wo die Fettzersetzung eine praktische Bedeutung hat, nämlich in Butter und Käse. Ueber die Zersetzung von Fetten im Boden existieren nur ganz vereinzelte Arbeiten, und es ist z. B. noch nicht mit Sicherheit festgestellt worden, ob die Fette vollkommen oxydiert werden oder ob irgend welche Zwischenprodukte entstehen. Noch viele andere Probleme, wie z. B. die Bevorzugung einzelner Säuren, die anaerobe Zersetzung harren noch eines eingehenden Studiums. Jedenfalls hat die Zersetzung der Fette noch keine ihrer Bedeutung entsprechende Bearbeitung gefunden. Vielleicht mag neben der geringen praktisch-technischen Bedeutung auch die Schwierigkeit der genauen Fettanalyse Schuld daran sein.

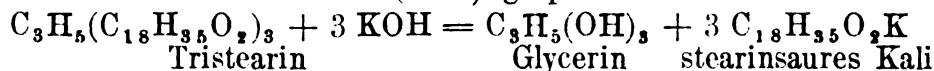
In den bakteriologischen Lehrbüchern findet man daher entweder gar keine Angaben, z. B. in Emmerlings Zersetzung stickstofffreier organischer Substanzen durch Bakterien, wo die ganze Gruppe der Fette unerwähnt bleibt, andere erwähnen dies Gebiet nur ganz kurz, als Anhang zu anderen Kapiteln.

Die Fette sind Ester des Glycerins mit organischen Säuren. In den verschiedenen Fetten sind bisher gefunden worden die normalen Säuren der Fettreihe mit gerader Kohlenstoffatomzahl von  $C_2H_4O_2$  bis

$C_{20}H_{40}O_2$ , außerdem die Oelsäure  $C_{18}H_{34}O_2$ , die sich von der Stearinsäure  $C_{18}H_{36}O_2$  nur durch die Doppelbindung unterscheidet. Die Säuren mit 2—12 C-Atomen sind in Wasser löslich und mit Wasserdämpfen unzersetzt flüchtig; sie werden daher allgemein als flüchtige, lösliche oder auch niedere Fettsäuren bezeichnet; die höheren heißen im Gegensatz dazu unlösliche oder nicht flüchtige Säuren.

Die natürlichen Fette sind ein Gemenge der Glyceride von Palmitin-, Stearin- und Oelsäure. Einige enthalten außerdem noch andere der oben erwähnten Säuren, zuweilen in beträchtlicher Menge.

Durch Erwärmen mit Alkalien werden die Fette verseift, d. h. in Glycerin und fettsaures Alkali (Seife) gespalten.



Ähnlich wirken die fettspaltenden Enzyme, nur entsteht dann kein fettsaures Salz, sondern die freie Säure.

Bei der Zersetzung der Fette durch Bakterien und Schimmel sind nun verschiedene Möglichkeiten vorhanden. Der Fettzehrung geht wahrscheinlich stets eine enzymatische Spaltung voraus, da die Fette sonst wegen ihrer außerordentlich geringen Löslichkeit in Wasser<sup>1)</sup> nicht sehr intensiv angegriffen werden können. Allerdings ist eine Lipase durchaus nicht in allen Fällen nachgewiesen.

Von dem gespaltenen Fett können nun entweder Glycerin und Säuren gleichmäßig angegriffen werden, oder eine Komponente wird bevorzugt. Fast durchweg wird das Glycerin zuerst und zwar schneller als die Fettsäuren verzehrt; entweder wird es vollkommen oxydiert oder in Aldehyd oder Säuren umgewandelt. Nebenbei werden auch die Fettsäuren gewöhnlich zum Teil angegriffen. Während einige Organismen die niederen Fettsäuren bevorzugen, verbrauchen andere nur die höheren, noch andere greifen die infolge der Doppelbindung leicht zersetzliche Oelsäure an.

Eine starke Glycerinzehrung wird sich durch Steigen der Acidität des Fettes dokumentieren. Die Bevorzugung der niederen Fettsäuren bedingt ein Sinken der Reichert-Meissl-Zahl. Bei vorwiegender Oelsäurezersetzung wird die Jodzahl abnehmen.

Frisches wasserfreies Fett kann durch Bakterien nicht zersetzt werden. Wenn die Handelsfette auch gewöhnlich Spuren von Mineralsalzen enthalten, wenn auch das Phytosterin der Pflanzenfette, das Lecithin der Tierfette zur Stickstoffnahrung vielleicht ausreichen würden, so macht doch der Wassermangel jede Vegetation unmöglich. Bakterien und Schimmelpilze gehen langsam zu Grunde, wenn sie in frisches Fett geimpft werden (1, 2). Das Fett unterliegt aber einer rein chemischen Zersetzung. Diese geht bei Zimmertemperatur im Dunkeln ganz außerordentlich langsam vor sich, wird aber durch Erwärmung und durch Belichtung sehr beschleunigt. Duclaux (3) wies zuerst nach, daß steriles Butterfett im Sonnenlicht große Mengen Sauerstoff absorbiert und an Gewicht zunimmt. Im Fett konnten Oxyölsäure und Ameisensäure nachgewiesen werden. Ritsert (1) bestätigte und vervollständigte diese Beobachtung. Er zeigte, daß Kohlensäure in sehr viel schwächerem Maße ebenfalls das Fett verändert. Jensen (4) fand in steriler wasserhaltiger Butter dasselbe. Das Fett schmeckt widerlich

1) Rubner hat nachgewiesen, daß die Fette in Wasser nicht absolut unlöslich sind.



talig, aber nicht ranzig (kratzend). Die Acidität ist nicht sehr stark gestiegen, die Jodzahl bedeutend gefallen. Unter dem Einflusse des Lichtes wird vorzugsweise das Butyrin gespalten, die Glyceride der höheren Säuren bleiben fast unverändert.

Ist ein Fett unter dem Einfluß des Lichtes verändert, so wachsen Bakterien, Hefen und Schimmel recht gut darauf und zersetzen das Fett intensiv (1). Das früher fehlende Wasser wird jetzt wahrscheinlich aus der Luft durch das freigewordene Glycerin beschafft, welches sehr stark hygroskopisch ist; bei der weiteren Oxydation der Fette entsteht auch stets neues Wasser; sodann scheint den Bakterienkolonien eine gewisse Hygroskopizität eigen zu sein; verschiedentlich ist schon eine starke Wasserzunahme in Stoffen durch Bakterienwachstum wahrgenommen worden (5), eine Reihe von noch nicht publizierten Versuchen im hiesigen milchwirtschaftlichen Laboratorium sprechen ebenfalls dafür.

Wasserfreie Fette sind nun ein in der Natur nicht vorkommendes Produkt. Gewöhnlich ist das Fett mit wasser- und eiweißreichen organischen Resten gemischt und die Bedingungen für die Zersetzung sind sehr viel günstigere. Sowohl bei der Verwesung der Organismen im Boden wie in den fetthaltigen Nahrungsmitteln, Butter und Käse, werden den Bakterien außer Fett noch andere Nährstoffe reichlich geboten. Der starken Vermehrung der Bakterien entspricht eine weitgehende Zersetzung der Fette, dagegen ist die Abnahme an Fettsäuren gering, denn die Mikroorganismen ziehen die leicht assimilierbaren anderen Stoffe den schwer löslichen Fettsäuren vor. Wir können also meistens eine ziemlich starke Veränderung der Fette, aber immer nur eine geringe Abnahme feststellen.

Bei dem speziellen Eingehen auf die verschiedenen Fettzersetzen beginne ich mit dem Ranzigwerden der Butter, welches recht genau studiert worden ist; im Anschluß daran soll die Fettzersetzung im Käse kurz berührt werden und dann noch das Verschwinden des Fettes im Boden besprochen werden.

### Das Ranzigwerden der Butter.

Wenn man Butter kühl und dunkel aufbewahrt, so wird sie nach längerer Zeit ranzig. Setzt man Antiseptika zu, so bleibt sie unverändert. Die Zersetzung kann demnach nur durch Mikroorganismen oder durch Enzyme bewirkt sein. Eine enzymatische Fettzersetzung ist nicht a priori abzuweisen. Die Milch enthält in normalem Zustand verschiedene Enzyme, sie kann auch Enzyme enthalten, die durch die Nahrung in den Blutkreislauf gekommen sind. Lange Zeit hat man gestritten, ob die Milch ein fettspaltendes Enzym besitzt. Nach den Untersuchungen von Gillet (6) ist nun der Streit durch den Befund geschlichtet, daß das fragliche Milchenzym wohl Monobutyryn, aber nicht eigentliche Fette spalten kann.

Wird die Butter von der Luft abgeschlossen, so wird sie sehr langsam verändert. Dies spricht gegen die Vermutung einer Lipasewirkung und läßt sich einwandfrei wohl nur dadurch erklären, daß man das Ranzigwerden der Butter auf die Tätigkeit aërober Mikroorganismen zurückführt.

Ranzige Butter schmeckt kratzend; dieser Geschmack wird nach Duclaux (3) durch die Buttersäure und ihre nächsten Homologen bedingt. Schmidt (7) nimmt außerdem noch Aldehyd als Geschmacks-

stoff an, doch fand Schaffer (8) die Aldehydzunahme nicht proportional der Ranzidität. Amthor (9) konnte auch Aethylbutyrat nachweisen, ebenso Jensen (4).

Ranzige Butter besitzt eine starke Acidität, eine normale Jodzahl und eine kaum veränderte Reichert-Meissl-Zahl. Ist die Butter jedoch während des Ranzigwerdens belichtet gewesen, so ist die Jodzahl gesunken. Die freien Säuren sind vorzugsweise höhere Fettsäuren (10); die Glyceride der niederen Säuren werden langsamer gespalten.

Die Ansichten über die spezifischen Erreger des Ranzigwerdens gehen noch ziemlich weit auseinander. Die große Keimzahl der Butter ist schon vielen Forschern aufgefallen. Es wurden durchschnittlich etwa 10—50 000 000 Keime pro Gramm gefunden; dabei ist in Betracht zu ziehen, daß  $\frac{5}{6}$  der Butter aus Fett bestehen und nur  $\frac{1}{6}$  als Nährlösung dient. In frischer Butter fanden sich regelmäßig die verschiedenen Milchsäurebakterien, *Bacillus fluorescens liquefaciens*, meistens auch *Oidium lactis*, einige Hefen, Coli- und Heubakterien. In ranziger Butter herrschten *Oidium lactis* und *Cladosporium butyri*, eine von Jensen (4) zuerst gefundene Species, vor; die anderen in frischer Butter vorhandenen Bakterien findet man später weniger häufig oder gar nicht. Jensen zeigte durch quantitative und qualitative bakteriologische Analyse, daß während des Ranzigwerdens ein Florawechsel stattfindet. Die Milchsäurebakterien nehmen von vornherein ab. An der Oberfläche vermehren sich *B. fluorescens* und andere verflüssigende Bakterien anfangs ziemlich stark, nach etwa 14 Tagen jedoch beginnen sie abzusterben und sind nach einigen Monaten oft nicht mehr nachzuweisen. *Oidium lactis* wächst inzwischen immer weiter, wird aber schließlich durch *Cladosporium butyri* überwuchert und verdrängt.

Reinmann (11) fand bei seinen Untersuchungen über die Einwirkung von Reinkulturen auf sterile Butter, daß die meisten Organismen überhaupt nicht auf das Fett wirken; nur *B. fluorescens*, *Streptothrix alba* und ein Sproßpilz änderten den Geschmack der Butter, ohne sie jedoch wirklich ranzig zu machen.

Jensen wiederholte die Versuche, indem er sterilen Rahm mit den Reinkulturen mischte und dann verbutterte. Die mit *B. fluorescens* und *B. prodigiosus* versetzte Butter wurde stark ranzig und ungenießbar. Sie zeigte intensiven Buttersäuregeruch und einen hohen Säuregrad. Heubakterien zersetzten das Fett nicht, machten aber die Butter sauer; einige *Streptothrix*-euen verursachten geringe Spaltung und einen moderigen Erdgeruch. Hefen waren wirkungslos. *Oidium lactis* zersetzt das Fett sehr stark; die Säurezahl steigt bis 80. Trotzdem war von 3 Proben nur eine ungenießbar, die anderen schmeckten bitter, aber nicht ranzig, weil die freien Fettsäuren an der Oberfläche oxydiert, im Innern an das aus dem Kasein entstandene Ammoniak gebunden werden. In Mischkulturen mit *B. fluorescens* oder *B. prodigiosus* wurde die Butter intensiv ranzig.

*Cladosporium butyri* verändert sterile Butter sehr wenig, bildet aber Buttersäureester. Gemeinsam mit *Oidium* verursacht es dagegen in kürzester Zeit intensives Ranzigwerden mit allen typischen Merkmalen. *Penicillium glaucum* verhielt sich ähnlich wie *Cladosporium*, wirkte aber schwächer auf das Fett.

Jensen untersuchte stets, ob irgend welche Säuren bevorzugt wurden. Es zeigte sich, daß bei der Verseifung die Fette stets gleich-

mäßig angegriffen wurden; auch die Verzehrer der freien Fettsäuren fand meist gleichmäßig statt<sup>1)</sup>; die Schimmelpilze jedoch scheinen die niederen Fettsäuren zu bevorzugen. Freies Glycerin konnte nie nachgewiesen werden. Alle untersuchten Organismen verzehren Glycerin, Oidium und Cladosporium, ziehen es selbst dem Milchzucker vor. Die erwähnten Bakterien sowie Oidium besitzen ein starkes Fettspaltungsvermögen. Cladosporium hat diese Eigenschaft nicht und kann deshalb nur in Gemeinschaft mit Oidium die Butter intensiv angreifen.

### Die Fettzersetzung im Käse.

Die Fettzersetzung im Käse ist verschiedentlich bestritten worden. Die Schwierigkeiten einer einwandfreien Trockensubstanzbestimmung und eine falsche Fettextraktionsmethode sind die Ursache der aufgetretenen Widersprüche. Ende der 70er Jahre zeigte Musso (13), daß in Weichkäsen das Fett stärker zersetzt wird als in Hartkäsen. Benecke und Schulze (14) fanden nur geringe Fettspaltung im Emmentaler Käse. Weigmann und Bake (15) konnten freie Palmitin-, Stearin- und Oelsäure nachweisen. Kirsten (16) bewies, daß das Neutralfett aus reifem Käse die gleiche Zusammensetzung hat wie das Originalmilchfett, und schloß daraus, daß überhaupt keine Zersetzung stattgefunden habe, da eine gleichmäßige Zersetzung aller Fettkomponenten unwahrscheinlich sei. Die freien Fettsäuren hielt er für Spaltungsprodukte des Kaseins. Eine Fettsynthese im Käse vermuteten schon Blondeau (24), Musso und Menozzi (27), sowie Schulze und Weidmann (25). Laxa (23) hat die Entstehung von Fett in Kaseinlösung durch Schimmel einwandfrei nachgewiesen. Dasselbe war fast ausschließlich im Mycel vorhanden, also vermutlich als Reservestoff gebildet, und betrug bei Oidium lactis 0,61 Proz., bei Penicillium 0,24 Proz. der Kaseinmenge. Hierbei möchte ich auch die Bildung des „Leichenwachses“ aus Eiweiß erwähnen, welche von verschiedenen Forschern freilich bestritten wird.

Windisch (17) verbesserte die Fettgewinnungsmethode, indem er die Käsemasse vorher ansäuerte; er erhielt hierdurch auch alle die an Ammoniak gebundenen Säuren, welche bei der Extraktion mit Aether nicht gewonnen wurden. Der Unterschied betrug bis 5 Proz. Laxa (23) und Jensen (18) benutzten dieselbe Methode. Windisch fand bei seinen Untersuchungen über die Fettzersetzung in 4 Weichkäsesorten eine manchmal sehr starke, manchmal geringere Abnahme der Reichert Meissl-Zahl; die flüchtigen Säuren waren teils verdunstet, teils von Schimmeln und Bakterien verzehrt. Die Säurezahl stieg außerordentlich hoch, ebenso nahm die Jodzahl zu, vielleicht infolge von Jod bindenden Zersetzungsprodukten des Glycerins. Das Neutralfett enthält im reifen Käse mehr flüchtige Säuren und weniger Oelsäure als die freien Säuren.

Jensen (18) bestätigte diese Befunde. Er zeigte, daß die Fettspaltung im Magerkäse stärker ist als im Fettkäse, und an der Außenfläche des Käses stärker als im Innern. Außer den Säuren des Butterfettes konnten auch Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure und Valeriansäure nachgewiesen werden. Diese stammten jedoch nicht aus dem Fett, sondern aus dem Eiweiß und Milchzucker. Beim Schab-

1) Es ist jedoch nicht sicher nachgewiesen, daß ein solcher Säureverzehr wirklich stattgefunden hat; vielleicht ist nur das Glycerin angegriffen worden.

ziegerkäse wurde außerdem Buttersäure aus dem Milchzucker gebildet. Auf diese Weise lassen sich vielleicht auch die Beobachtungen von Raumer (28) erklären, welcher im Aetherextrakt von überreifem Limburger Käse eine ungewöhnlich hohe Reichert-Meissl-Zahl fand.

Laxa (23) untersuchte das Fettspaltungsvermögen von Reinkulturen verschiedener Mikroorganismen, die er auf das abgepreßte und sterilisierte Labgerinnsel von Vollmilch impfte. Verschiedene Arten von Milchsäurebakterien wirkten gar nicht auf das Fett, ebensowenig zwei Tyrothrix-Arten. *Bacillus fluorescens* zersetzte das Fett sehr intensiv. Zwei andere Kasein peptonisierende Bakterien und eine Hefe zeigten ganz schwache Fettspaltung. Sehr energisch wirkten dagegen *Oidium lactis*, *Penicillium glaucum* und eine *Mucor*-Art ein; das Fett wird zuerst durch ein Enzym gespalten, welches man durch Zerreiben der Zellen gewinnen kann. Das Glycerin wird oxydiert, ebenso ein Teil der flüchtigen Säuren, wahrscheinlich auch nicht flüchtige.

Die Fettspaltung ist nicht bei allen Glyceriden die gleiche, dies wird durch zwei Umstände bedingt. Einerseits steigt die Schädlichkeit der freigewordenen löslichen Fettsäuren gegenüber den Schimmelpilzen mit der steigenden Molekulargröße, andererseits werden die Glyceride der nicht löslichen Fettsäuren, welche ein höheres Molekulargewicht besitzen, leichter gespalten. Die freigewordenen Säuren werden durch die Schimmelpilze weiter zerlegt.

Bei der Zersetzung des Fettes in Butter und Käse scheint demnach das Glycerin derjenige Bestandteil zu sein, der vorwiegend verzehrt wird. Die Abnahme der Fettsäuren ist recht gering. Die Oelsäure wird gar nicht oder nur unmerkbar wenig angegriffen.

### Die Zersetzung der Fette im Boden.

Die kolossalen Fettmengen, die jährlich in den Boden gelangen, werden sehr wahrscheinlich durch Bakterien und Schimmel vollkommen oxydiert; anderenfalls müßten wir ja in der Erde große Fettschichtungen finden. Die Fettzersetzung geht sogar ziemlich rasch vor sich, bei Leichen ist das Fett schneller verschwunden als die Knochen. Eine chemische Einwirkung des Bodens auf das Fett findet nicht statt; in sterilem Boden konnte Rubner (19) keine Fettzersetzung beobachten; dagegen wurde das Fett in gewöhnlichem feuchten Boden sowohl gespalten wie verzehrt. Die verschwundene Fettmenge betrug 865 g pro Jahr und Kubikmeter, oder 2,3 g täglich, im Vergleich mit anderen biologischen Umsetzungen eine sehr geringe Menge. Die Art des Bodens spielte keine wichtige Rolle, dagegen ist der Wassergehalt maßgebend. In sehr nassem Boden findet keine Zersetzung statt, in lufttrockenem Boden dagegen noch merklich. Diese Zersetzung ist wohl auf Wachstum sehr anspruchsloser Schimmelpilze zurückzuführen. Bei zu großer Bodenfeuchtigkeit verhindert die schlechte Durchlüftung eine intensive Fettoxydation.

Rubner fand, daß die verschiedensten Fette, Butterfett, Mandelöl, Leberthran, Oelsäure und Stearinsäure im Boden zersetzt wurden. Boden mit 1,5 Proz. Butterfett verlor in 2 Monaten 18 Proz., in 1 Jahr 23 Proz., in 12 Jahren 88 Proz. der Gesamtfettmenge. Eine Bevorzugung bestimmter Säuren konnte nicht festgestellt werden. Ein großer Teil des Rückstandes war verseift.

In Bodenextrakt konnte keine Fettzersetzung beobachtet werden; nach Zusatz von Fleischextrakt wurde dieselbe sehr intensiv. Die Fett zersetzenden Bakterien verlangen also eine gute Stickstoffnahrung. Dies ist nicht sehr wunderbar, da überall, wo Fett sich im Boden befindet, zugleich auch noch andere organische Reste anwesend sein werden, mit denen das Fett im Organismus durchsetzt war.

In Fleischextraktlösung wurde das Fett so stark gespalten, daß schließlich fast nur noch Fettsäuren vorhanden waren. Kalkzusatz begünstigte die Zersetzung außerordentlich, wahrscheinlich durch die Neutralisation der freien Säuren. Im Erdboden hatte Kalkzusatz dagegen gar keinen Einfluß.

Schreiber (20) vervollständigte die Untersuchungen Rubners dadurch, daß er die Fettzersetzung durch Reinkulturen studierte. Aus Fett, welches längere Zeit in der Erde vergraben war, wurden 30 Organismen isoliert, von denen jedoch nur 2 Bakterienarten und 1 Schimmelpilz Fett zersetzten.

Das von Schreiber zum Studium benutzte Fett war Mandelöl. Diese Wahl ist offenbar eine sehr unglückliche, da das Oel sehr leicht durch Oxydation an der Luft ranzig wird und eine saure Reaktion annimmt. Der Umstand, daß es ein fast reines Triolein ist, scheint mir vom Standpunkt der Physiologie kein Vorteil zu sein, da eine Bevorzugung einzelner Säuren hier nicht beobachtet werden kann. Dieses Oel wurde durch *Bacillus fluorescens* und *Bacillus*  $\phi$ , ein kleines, langsam verflüssigendes, schleimbildendes Stäbchen, ziemlich intensiv zersetzt; das zurückbleibende Oel ist stark sauer. Beide Bakterien bilden Buttersäure. Bei Emulsion des Fettes mit Gummi arabicum wurde sehr viel mehr zersetzt als bei einfachem Fettzusatz und häufigem Schütteln. Die Fettzersetzung ist bei Zimmertemperatur am intensivsten. Bei 37° starben beide Bakterien ab, ohne Fett zu zersetzen.

Die Stammkultur von *B. fluorescens*, die schon lange im Laboratorium gezüchtet war, hatte gar kein Fettspaltungsvermögen. Dagegen konnten die Laboratoriumskulturen von *Spirillum Finkleri* und *Micrococcus tetragenus* Fett zersetzen. *Bacillus*  $\phi$  wirkte auf Mandelöl noch nach 1 $\frac{3}{4}$ -jähriger Kultur auf Gelatine.

In der bakteriologischen Literatur findet man öfters gelegentliche Angaben über beobachtete Fettzersetzung. Als erster fand Escherich (29), daß der Fettgehalt der Fäces infolge der Einwirkung von Mikroorganismen abnahm. Ferner zeigte Gottstein (12), daß Schweinefett durch Bakterien angegriffen wird, nicht aber Lanolin. Er vermutete anaërobe Zersetzung des Schweinefettes. Schreiber (20) konnte anaërobe Fettzersetzung niemals beobachten.

Ritsert (1) fand, daß in ranzigem Fett Bakterien, Schimmel und Hefen gut vegetieren. Die Schimmelpilze scheinen überhaupt für die Fettzerstörung geeigneter zu sein als die Bakterien. Hanus und Stocký (21) fanden, daß *Mucor mucedo* in Butter sehr üppig wächst, die Fette spaltet und alles Glycerin sowie einen Teil der Fettsäuren, namentlich der niederen, vollkommen oxydierte. Die Oelsäure blieb unangegriffen. Salkowski (26) zeigte, daß Butter, welche 3 Jahre geschimmelt war, 81,3 Proz. freie Fettsäuren enthielt. Bremer (5) beobachtete in Baumwollsaatmehl oft eine außerordentlich starke Fettabnahme. Dieselbe wurde durch das Wachstum verschiedener Schimmelpilze, namentlich des *Eurotium repens*, *Eurotium rubrum*, *Aspergillus flavus*

und einiger Oidien erklärt. Die Fettspealtung ist nicht sehr stark, der Fettrückstand enthält noch große Mengen Neutralfett.

Eine eigenartige Methode zum Nachweis der Fettspealtung benutzte v. Sommaruga (22). Er impfte Bakterien auf Gelatine mit und ohne Fett und titrierte nach längerem Wachstum die Nährböden. War Fettzersetzung eingetreten, so waren nach seiner Ansicht aus einem Molekül Fett 4 Moleküle Säure entstanden, drei durch die einfache Spaltung, das vierte aus dem Glycerin. Auf diese Weise wurden unter den Laboratoriumskulturen viele „Fettspalter“ gefunden. Die nach dem oben erwähnten Kalkül aufgestellte Berechnung des Fettverlustes ergab in Parallelversuchen bis zu 20 Proz. Differenz, bei 3 Species war der Fettverlust sogar negativ. Einige beiläufige Bemerkungen über Fettzersetzung, bei denen der Fettrückstand nicht weiter untersucht wurde, lasse ich ganz unerwähnt, da sie zu der allgemeinen Kenntnis der Fettzersetzung nicht beitragen können.

### Zusammenfassung.

Bisher sind nur wenige Bakterien bekannt, welche Fett verzehren können. Bei Schimmelpilzen findet man diese Eigenschaft häufiger. Die Fettzersetzung kann nur bei organischer Stickstoffnahrung erfolgen<sup>1)</sup>.

In allen Fällen wird zuerst das Glycerin aufgezehrt. Daher zeigen die zersetzten Fette eine höhere Säurezahl.

Die Fettsäuren werden merkwürdigerweise von den Bakterien scheinbar ohne Auswahl gleichmäßig verzehrt. Die Schimmel zeigen eine Vorliebe für die niederen Fettsäuren.

Bei der Oxydation der Fettsäuren sind niemals Nebenprodukte beobachtet worden. Die Oxydation scheint also ganz vollständig zu sein. Nur bei der Oleinzersetzung wurde Buttersäuregeruch wahrgenommen. (Die Buttersäure kann vielleicht aus Glycerin oder Pepton entstanden sein.)

Anaërobe Fettzersetzung findet niemals statt. Es könnte auch nur das Glycerin anaërob zerlegt werden; die kohlenwasserstoffähnlichen Fettsäuren mit ihrem geringen Sauerstoffgehalt sind einer anaëroben Zersetzung gar nicht fähig.

### Literatur.

- 1) Ritsert, E., Untersuchungen über das Ranzigwerden der Fette. Dissertation Bern, 1890.
- 2) Chiapella, A. R., Ricerche microbiologiche sull'olio di oliva. Firenze 1902. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. p. 232.)
- 3) Duclaux, Le lait. Etudes chimiques et biologiques. Paris 1887.
- 4) Jensen, O., Studien über das Ranzigwerden der Butter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 11.)
- 5) Bremer, W., Die Fett verzehrenden Organismen in Nahrungs- und Futtermitteln Dissertation Münster, 1902.
- 6) Gillet, Ch., Existe-t-il une lipase dans le lait? (Journ. de physiol. et de pathol. générale. 1903.)
- 7) Schmidt, Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. XVII. 1878. p. 301.
- 8) Schaffer, Bericht über die Tätigkeit des kant. chem. Laboratoriums. Bern 1899.
- 9) Amthor, Zeitschr. f. analyt. Chemie. 1899. p. 10.
- 10) Bondzynski und Rufi, Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz. Bd. III. 1889. p. 114.
- 11) Reinmann, R., Untersuchungen über die Ursachen des Ranzigwerdens der Butter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. p. 131.)

1) Der Referent wird in einer demnächst erscheinenden Arbeit nachweisen, daß bei einigen Species Ammoniaknahrung genügt.

- 12) Gottstein, Das Verhalten der Mikroorganismen gegen Lanolin. (Berl. klinische Wochenschr. Bd. XXIV. 1887. p. 907.)
- 13) Musso, Versuchsstationen Lodi. 1877, 1878 und 1879.
- 14) Benecke und Schulze, Untersuchungen über die Emmentalerkäse. (Landw. Jahrb. Bd. XVI. 1887. p. 317.)
- 15) Weigmann und Bake, Ueber die Frage der Zersetzung des Milchfettes bei der Käsereifung. Versuchsstationen. 1898. (Milchztg. 1898. p. 757.)
- 16) Kirsten, Zeitschr. f. Unters. v. Nahrungs- u. Genußmitteln. 1898.
- 17) Windisch, Ueber die Veränderungen des Fettes beim Reifen der Käse. (Arbeiten a. d. k. Gesundheitsamt Berlin. Bd. XVII. 1900.)
- 18) Jensen, O., Biologische Studien über den Käseierungsprozeß. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1904. p. 314.)
- 19) Rubner, Ueber Spaltung und Zersetzung von Fetten und Fettsäuren im Boden und in Nährflüssigkeiten. (Archiv f. Hyg. Bd. XXXVIII p. 67.)
- 20) Schreiber, K., Fettzersehung durch Mikroorganismen. (Archiv f. Hygiene. Bd. XLI. p. 328.)
- 21) Hanus und Stocký, Ueber die chemische Einwirkung der Schimmelpilze auf Butter. (Zeitschr. f. Unters. v. Nahrungs- u. Genußmitteln. Bd. III. p. 606.)
- 22) v. Sommaruga, E., Ueber Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen. III. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XVIII. 1894. p. 441.)
- 23) Laxa, O., Ueber die Spaltung des Butterfettes durch Mikroorganismen. (Archiv f. Hygiene. Bd. XLI. 1902. p. 119.)
- 24) Blondeau, Ann. de chim. et de phys. T. I. p. 208.
- 25) Schulze und Weidmann, Landw. Jahrb. Bd. XI. p. 587. Bd. XVI. p. 318.
- 26) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XV. p. 321.
- 27) Musso und Menozzi, Stationi speriment. agr. ital. 1877. p. 201.
- 28) v. Raumer, E., Zeitschr. f. angewandte Chemie. 1897. p. 77.
- 29) Escherich, Die Darmbakterien des Säuglings. Dissertation. 1896.
- 30) Müller, Zeitschr. f. klinische Medizin. Bd. XII. p. 61.
- 31) Baumann, Landw. Versuchsstationen. Bd. XLII. 1893. p. 211.

## Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

*Nachdruck verboten.*

### Aus dem Institute für Gärungsgewerbe, Berlin.

**van Hest, J. J.,** Gibt es wirklich große Vakuolen in den Hefezellen oder sind diese eine optische Täuschung? (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XXII. No. 8. p. 105.)

In einer vorläufigen Mitteilung behauptet Verf., die sogenannten großen Vakuolen der Hefezellen seien gar keine Vakuolen, sondern nur Schattenbilder von abgeplatteten Stellen der Zellhaut.

Mohr (Berlin).

**Lindner,** Bemerkungen zu der vorläufigen Mitteilung von J. J. van Hest: Gibt es wirklich große Vakuolen in den Hefezellen usw.? (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XXII. No. 9. p. 123.)

Verf. gibt zu, daß Abplattungen bei Hefezellen vorkommen, die auch gelegentlich fälschlich als Vakuolen gedeutet werden können, im übrigen steht das Vorkommen großer wirklicher Vakuolen bei Hefezellen zweifellos fest.

Mohr (Berlin).

**Bommel,** Gibt es Vakuolen? (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XXII. No. 9. p. 123.)

Verf. steht auf dem gleichen Standpunkt wie Lindner (siehe obenstehendes Referat) in der von Hest angeschnittenen Vakuolenfrage.

Mohr (Berlin).



**Tullo, T. W.,** Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Zuckerlösungen auf die Tötungstemperatur bei verschiedenen Hefenarten. [Aus dem Englischen übertragen von P. Lindner.] (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XXII. No. 11. p. 155—160, No. 12. p. 169—174, No. 14. p. 197—200.)

Junge, höchstens 4-tägige Zellen verschiedener Heferassen, die entweder auf dem Wege fraktionierter Kultur in steriler gehopfter Würze gezogen waren oder 2 Tage alte Zellen von Würzegelelatingkulturen in wässriger Aufschwemmung wurden mit sterilen 10-proz. Lösungen von d-Glukose, d-Fruktose, d-Galaktose, Rhamnose, Maltose, Laktose, Saccharose in Wasser und in Hefenwasser und weiter mit destilliertem Wasser und mit Hefenwasser vermischt, je 0,1 ccm Hefenaufschwemmung mit 1 ccm Zuckerlösung resp. destilliertem Wasser oder Hefenwasser, und dann in zugeschmolzenen sterilen Glasröhrchen im Wasserbad den in Betracht kommenden Temperaturen verschieden lange Zeit ausgesetzt. Nach dem Herausnehmen aus dem Wasserbad wurden die Röhrchen äußerlich mit Sublimat sterilisiert, geöffnet und die ausfließende Lösung in Fläschchen mit steriler Würze aufgefangen, und in letzteren die etwa eintretende Hefenentwicklung von Tag zu Tag verfolgt. Die Ergebnisse sind in umfangreichen Tabellen niedergelegt, bezüglich deren auf das Original verwiesen werden muß.

Aus Tabelle I, II und III geht hervor, daß *Saccharomyces ellipsoideus* II bei 47° in Glukoselösung durchschnittlich nach 210 Minuten währendem Erhitzen noch lebende Zellen zeigte, in destilliertem Wasser nur bis 145 Minuten. Bei 50° lag die Lebensdauer bei 69 Minuten resp. 53 Minuten, bei 52° bei 20 Minuten resp. 23 Minuten. Die ursprünglich gehegte Erwartung, daß ein wesentlicher Unterschied bestehen würde bezüglich der Tötungstemperatur, je nachdem die Hefe in Lösung eines gärfähigen oder nicht gärfähigen Zuckers oder in destilliertem Wasser erhitzt wurde, bestätigte sich nicht, bei einer Temperatur von 55° wurde die Hefe durch 5 Minuten langes Erhitzen abgetötet, gleichgültig, ob sie sich in irgend einer Zuckerlösung oder in Wasser suspendiert befand. Zur weiteren Untersuchung wurden noch herangezogen: untergärrige Bierhefe, Brennereihefe (Rasse II), *Saccharomyces Pastorianus* III, *Saccharomyces anomalus*, *Schizosaccharomyces Pombe*. Die Tötungstemperaturen bei 5 Minuten langer Erhitzungsdauer dieser Heferassen in Glukoselösung und in Wasser zeigt folgende Zusammenstellung:

	Glukoselösung	Wasser
Untergärrige Bierhefe	51° C	51° C
Brennereihefe Rasse II	54° "	54° "
Sacch. Pastorianus III	49° "	49° "
" anomalus	51° "	50° "
Schizosacch. Pombe	63° "	63° "
Sacch. ellipsoideus II	54° "	54° "

Beim Erhitzen derselben Heferassen bei Temperaturen unterhalb der Tötungstemperatur wurde folgende durchschnittliche Widerstandsdauer gefunden:

	Glukoselösung	Wasser
Untergärrige Bierhefe bei 50° C	20 Minuten	10 Minuten
Brennereihefe Rasse II bei 50° C	63 "	63 "
Sacch. Pastorianus III bei 46,5° C	40 "	20 "
Sacch. anomalus bei 47,5° C	30 "	15 "



Wie bereits erwähnt, stellen diese Zahlen nur Durchschnittswerte dar, bei den einzelnen Versuchen traten oft große Unregelmäßigkeiten zu Tage, besonders nach der Richtung hin, daß einzelne Zellen außerordentlich viel beständiger waren als der Durchschnitt. Ein Versuch, diese Anomalien aufzuklären, führte zur Beobachtung des Auftretens von Riesenzellen bei den Gelatinekulturen von *Sacch. ellipsoideus* II, indes zeigte die weitere Untersuchung dieser Zellen, daß sie viel weniger widerstandsfähig waren, wie die normalen. Dasselbe galt von langgestreckten Zellen, die neben den ovalen oder elliptischen Formen beobachtet wurden. Obgleich also die Riesenzellen die beobachteten Unregelmäßigkeiten nicht verschuldet haben konnten, wurden ihre Wachstumsbedingungen und ihr Verhalten etwas genauer verfolgt, die hauptsächlichsten Ergebnisse dieser Untersuchungen sind die folgenden: am leichtesten scheinen sich die Riesenzellen in Gelatinekulturen zu bilden, in Tröpfchenkulturen mit Hefenwasser wuchsen keine, dagegen in solchen mit Würze. Sie stellen keine lebenskräftigen Formen dar, sondern sterben meist bald ab. Treiben sie lebenskräftige Sprosse, so geben diese bald eine Generation, welche mit der gewöhnlichen *Ellipsoideus*-Form übereinstimmt.

Weiter wurden inmitten abgestorbener Zellen solche mit außerordentlich homogenem Plasma beobachtet, welche intensive Glykogenreaktion gaben. Ob der mehr oder weniger hohe Glykogengehalt in Zusammenhang mit der Temperaturempfindlichkeit steht, wurde nicht geprüft. Schließlich wurde noch eine Versuchsreihe angestellt, um zu ermitteln, ob die Natur der Zuckerlösung Einfluß auf das Sporenbildungsvermögen äußert; mit wachsender Neigung zur Sporenbildung muß ja die Hitzebeständigkeit der Hefe zunehmen. Nur bei Anwendung von Rhamnose und Laktose — bei letzterer am reichlichsten — war reichliche Sporenbildung zu beobachten.

Mohr (Berlin).

### Referate.

**Neumann-Wender**, Die reduzierenden Enzyme und ihre Beziehungen zur alkoholischen Gärung. (Oesterreichische Brennereiztg. Jg. III. 1905. No. 4.)

Verf. bespricht die einschlägigen Arbeiten und Ansichten der Forscher, welche alle die Reduktionsprozesse in den lebenden Zellen bzw. die reduzierenden Eigenschaften der Gewebe, verschiedener Bakterienarten und des Hefepreßsaftes untersucht haben. Sodann berichtet er über die Vorstellung, die sich Grüss über den Verlauf der Gärung gemacht hat und kommt endlich zu der Behauptung, daß zwar die reduzierenden Enzyme zu den Zymasen wahrscheinlich in Beziehung stehen, die Identität der Hydrogenase und Zymase, sowie der Hydrogenase und Katalase aber nicht erwiesen ist. Auch müsse die Identität der Katalase mit der Zymase und zwar auf Grund ihres verschiedenen Verhaltens gegen Sodalösung und Alkohol, sowie der Verschiedenheit der Höhe ihrer Vernichtungstemperaturen und der Zerstörbarkeit durch proteolytische Enzyme bestritten werden.

Kausch (Charlottenburg).

**Lange, H.**, Anregung der Gärkraft der Hefe durch Reizmittel. (Oesterreich. Brennereiztg. Jahrg. III. 1905. No. 7 und 8.)

Verf. hat in Gemeinschaft mit Deinhardt und Stiegeler eine Reihe von Versuchen durchgeführt, um die Einwirkung von verschiedenen Stoffen als Reizmittel auf die Zymaseveränderungen der Hefe näher zu studieren. Die Zahl der zur Einwirkung gebrachten Stoffe betrug 73 und diejenige der Einzelbestimmungen 592. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß als Maßstab für die in der Gärkraft der Hefe sich äußernde Wirkung der Zymase diejenigen Mengen an Kohlensäure angesehen wurden, die von je 10 g Hefe in 400 ccm einer 10-proz. Rohrzuckerlösung unter Zusatz aliquoter Mengen dieser Stoffe bei 30° C erzeugt wurden.

Von den angewendeten Stoffen sind in erster Linie zu nennen: das Asparagin, das saure Kaliphosphat, das Magnesiumsulfat und das Pepton, deren enzyymbildende Wirkung sehr stark war. Ferner erwiesen sich die Gruppen der amidartigen Verbindungen, vor allem der Säureamide, ferner der ein- und mehrwertigen Alkohole und der meisten Säuren als wirkungsvoll. Eine günstige Zymaseanreicherung gaben Zusätze von Schrot oder wässerigen Auszügen der in der Brauerei verwendeten Rohstoffe oder deren Malze. Besonders stark wirkten Roggen, Gerste, Mais und Hafer. Ebenfalls von guter Wirkung waren die Malz- und Backmehle, sowie Diamalt und der nach dem Bauerschen Verfahren durch Selbstverdauung aus der Hefe gewonnene Extrakt. Verf. kommt zu dem Schlusse, daß es vorteilhaft ist, den enzymarmen Maischen geeignete Zusätze der genannten Art zu geben. Auch der Selbstgärung unterliegende Maischen und Melassemaischen werden durch derartige Zusätze wesentlich verbessert. — Endlich kann auch die Zymaseanreicherung der Hefe für die Verbesserung der Stellhefe in der Lufthefefabrikation mit Erfolg herangezogen werden.

Kausch (Charlottenburg).

**Šula, Jaroslav**, Ueber die Einführung und gegenwärtige Verbreitung der Reinhefe in den Sudetenländern. (Oesterr. Brauer- u. Hopfenztg. Jahrg. XVIII, No. 1, 2 u. 3. p. 1, 17 u. 28.)

Nach einer die Geschichte der Reinzüchtung und die von Hansen in die Gärungstechnik eingeführte Reform umfassende Einleitung geht Verf. zu seinem eigentlichen Thema, der Reinhefe in der Bierfabrikation in den Sudetenländern, über.

In Böhmen unternahm B. Svoboda in Protiwin die ersten Versuche mit Reinhefe im Monat Juli 1884. Das Resultat war nicht nach Wunsch, der neue Geruch und Geschmack, welchen die angewendete Carlsberg-Hefe dem Biere verlieh, befriedigte nicht die Kundschaft. Mehrere andere Versuche mit Carlsberg-Hefe gaben dasselbe Resultat, obwohl die Brauer darüber einig waren, daß das Bier übrigens von ausgezeichneter Qualität war. Erst im Monat Februar 1888, als die neu errichtete Versuchsanstalt für Brauindustrie in Prag eine Art aus einer in Böhmen allgemein angewandten Bierhefe isolierte, fand die Reinzucht in den Brauereien Eingang. Die Weifertsche Brauerei in Pancsova empfing die erste Sendung Reinhefe. Diese Brauerei und jene des Herrn J. Kašpar in Práč bei Prag waren die ersten Brauereien in Böhmen, welche die Bedeutung der neuen Reform gebührend zu würdigen wußten und die Reinhefe zu ausschließlichem Gebrauche in ihren Betrieb einführten. In der Zeit von 1888 bis 1897 arbeiteten in

Böhmen insgesamt 11 Brauereien ausschließlich mit von der Versuchstation gelieferter Bierhefe. Mit Ausnahme von der Brauerei in Protiwin, welche die erste Brauerei war, die den Hefereinzuchtapparat einführte, waren keine Großbrauereien darunter. Von den übrigen Brauereien arbeitete ein Teil teilweise mit Reinhefe.

Im Jahre 1899 wurde in der Aktienbrauerei Smichow ein großer Propagationsapparat aufgestellt. Es war das dritte Etablissement Böhmens, welches die Reinhefekultur im großen einführte. Verf. gibt eine Beschreibung der Hefereinzuchtanlage hier. Unter anderem finden sich hier 4 große Glasdrahtbottiche, Patent Weber-Fischern, in welchen die Hefe vermehrt wird, wenn sie von den Propagationsapparaten kommt. Die Oberaufsicht bei der Reinhefekultur in der Smichower Aktienbrauerei ist der Versuchsanstalt für Brauindustrie übertragen.

Verf. erwähnt danach die verschiedenen Brauereien, welche Reinzuchtapparate besitzen. Sie haben ihm alle über die erreichten Resultate Aufklärung gegeben, welche überall ganz vorzüglich sind, mit Ausnahme eines einzigen Falles, wo die örtlichen Verhältnisse es unmöglich machten, Reinzuchtapparate zu verwenden. Verf. summiert die zahlreichen an dem Reinzuchtsystem geknüpften Vorteile, und er weist auf die Worte in Hansens Buche „Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie“ hin, wo dieser Forscher sich über die eigentümliche Stellung, welche Böhmen in betreff der Reinzuchtfrage einnimmt, äußert. Sehr langsam hat die Reinzucht Eingang gefunden, und es sind nur noch wenige Brauereien, welche Reinzuchtapparate besitzen, und zwar nur 6 in Böhmen von 617, 1 von 117 Brauereien in Mähren und 1 von 32 in Schlesien. In einzelnen Brauereien wird mit dem Apparate Hansen-Kühle gearbeitet, in den meisten Fällen wird Wichmanns Apparat verwendet.

Auf die Bierproduktion aller drei Sudetenländer bezogen, ergibt sich, daß von 11 Millionen Hektoliter Bier bloß  $6\frac{1}{2}$  Proz. mit Reinhefe vergoren werden. Verf. fordert die Brauereien auf, die neue Reform aufzunehmen und weist darauf hin, daß die großen Brauereien guten Absatz von Reinhefe an den vielen kleinen Brauereien finden werden, welche keinen Reinzuchtapparat selbst anschaffen können. Vom Auslande werden jährlich große Mengen Stellhefe eingeführt, z. B. im Jahre 1903 140 000 Kilo in die drei Sudetenländer.

Verf. warnt jede Brauerei, eine zu kleine Menge von Reinkulturen in den Betrieb einzuführen, denn ein zu langsames „Ankommen“ und träger Gärungsverlauf können verschulden, daß sich die Reinhefe dermaßen infiziert, daß von einer reinen Gärung im wahren Sinne des Wortes nicht mehr die Rede sein kann. Ebenso wie die österreichische Autorität Thausing, empfiehlt auch er, die Reinhefe im großen durch Hilfe von Propagationsapparaten zu züchten.

Alle, welche sich für die Reinhefefrage interessieren, werden mit großem Interesse die vorliegende Abhandlung lesen, welche auf allen Punkten die Gründlichkeit und Genauigkeit des Verf. dartut.

Klöcker (Kopenhagen).

**Mazé, P., et Perrier, A.,** Production d'acide citrique par Citromyces. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XVIII. 1904. p. 553—575.)

Verf. sehen in der Citronensäure ein Produkt des abbauenden Stoffwechsels, das dann entsteht, wenn das Kulturmedium den Pilzen keinen

assimilierbaren Stickstoff zu Verfügung stellt, aber noch als Kohlenwasserstoffquelle dienen kann. Die Säure erscheint als ein Produkt einer proteolytischen Wirkung, die in den älteren Zellen vor sich geht und die für die jüngeren Zellen den Stickstoff, den sie in der Kulturflüssigkeit nicht finden, besorgt.

Verf. glauben diesen Modus der Citronensäurebildung auf die Bildung der organischen Säuren im Pflanzenreiche überhaupt verallgemeinern zu können, und stellt sich das folgenderweise vor: Die Pflanze reguliert gewöhnlicherweise ihre Kohlenwasserstoffernährung, hat aber keine Wirkung auf die Stickstoff- und mineralische Ernährung, die von der Bodenfruchtbarkeit und von der Transpiration abhängig ist; wird die Zufuhr der mineralischen Nahrung verringert, so wird sich bei der Pflanze, sowie bei *Citromyces* eine organische Säure bilden.

G. Seliber (Paris).

**Corsini, A.**, Ricerche chimiche e crioscopiche su l'aceto che si vende in Firenze. (Annali di Igiene sperimentale. (2) Vol. XIV. 1904. p. 487.)

Von 60, bei verschiedenen Händlern in Florenz bezogenen Essigproben wurde kryoskopische Zahl, Dichte, Gesamtsäure, Alkoholgehalt, Extrakt, Asche, Kaliumbikarbonat, Glukose, Verhältnis zu Acidität der Extrakt bestimmt.

11 Proben mit unter 4 Proz. sinkender Acidität durften im Handel nicht bleiben, worunter 3 mehr als 2 ‰ Gips enthielten, 6 verfault oder wenigstens getrübt waren. 2 Proben enthielten noch über 2 ‰ Gips, 3 Eisenvitriol; 9 weitere Proben waren trüb. Daher erwiesen sich 41,6 Proz. der Proben als gesetzwidrig. Da weitere 15 Proben Aelchen enthielten, so waren im ganzen 68,3 Proz. der untersuchten Essige ungenießbar. Glücklicherweise handelte es sich um „gesunde“ Essige!

Pantanelli (Rom).

**Maassen**, Ueber Gallertbildungen in den Säften der Zuckerfabriken. (Arbeiten aus der Biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft am Kaiserlichen Gesundheitsamt. Bd. V. 1905. Heft 1. p. 1—30. Mit 3 Tafeln.)

Verf. gibt in diesem wertvollen „Beitrag zur Kenntnis der gallertbildenden Bodenbakterien“ zunächst einleitend einen Ueberblick über das bisher hinsichtlich der Gallertbildung in den Diffusionssäften der Zuckerfabriken Bekannte, speziell über die auf das Vorkommen von *Streptococcus* (*Leuconostoc*) *mesenterioïdes* gerichteten Untersuchungen, sowie über die Arbeiten von Koch und Hosäus, Glaser, Poupé und Laxa, aus denen hervorging, daß auch andere Bakterienarten, insbesondere sporenbildende, dieselbe Erscheinung hervorzurufen vermögen.

An Proben eines Filterpreßschlammes, der Gummibildung zeigte, stellte nun Verf. fest, daß auch in diesem Falle *Streptoc. mesenterioïdes* fehlte, dagegen sich eine sporenbildende, thermophile, augenscheinlich zur Gruppe der roten Kartoffelbacillen gehörende Bakterienart vorfand, die in hervorragendem Maße die Eigenschaft besaß, auf zuckerhaltigem Substrat Gallertmassen zu erzeugen. Dieser Spaltpilz stimmte in wesentlichen Eigenschaften mit den von Glaser, Poupé und Laxa gefundenen Bakterien (*Bact. gelatinosum betae* Glaser, *Clostridium gelatinosum* Laxa) überein; bei näherer Untersuchung zeigte

es sich jedoch, daß es sich hierbei nicht nur um eine Art, sondern um eine in der Natur weit verbreitete Gruppe eng verwandter Formen handelte, die allerdings einander so nahe stehen, daß sie mit den gewöhnlichen Methoden kaum voneinander zu unterscheiden sind. Nur die Kartoffelkulturen ließen in einigen Fällen deutliche Differenzen erkennen, dagegen wurde es möglich, durch die Agglutinationsprobe die Artverschiedenheit der Angehörigen dieser Gruppe sicherzustellen.

Verf. wählt im Hinblick auf die birnförmige, fast spindelförmige Gestalt der Sporenmutterzellen den (wohl überflüssigen) Genusnamen *Semiclostridium*, und bezeichnet die am häufigsten gefundene Art als *Semiclostridium commune*, deren morphologisches und physiologisches Verhalten auf das ausführlichste (auf 16 Seiten) beschrieben wird. 27 Mikrophotogramme erläutern den Text, von denen namentlich die Koloniebilder sehr wichtig sind, insofern das Aussehen derselben ein äußerst variables sein kann.

Sehr schöne froschlaichähnliche Gallertballen wurden in alkalischen 10—20-proz. Rohrzucker-Peptonlösungen erhalten. Verf. sieht diese Bildung als eine abnorme Wuchsform an, als eine „Ernährungsmorphose, die man wohl mit Berechtigung als teratologische Wuchsform auffassen kann“. Eingehende Untersuchungen lehrten ferner, daß bei der Gummibildung aus Rohrzucker neben Monosaccharosen Kohlensäure, Aethylalkohol, Ameisensäure, Essigsäure und Rechtsmilchsäure erzeugt wurden. Dagegen unterblieb die Bildung von Buttersäure. In zuckerhaltiger Salpeterlösung zeigte der Spaltpilz denitrifizierende Eigenschaften, und es ist sonach in ihm wahrscheinlich auch der Erreger jener Schaumgärung zu erblicken, die mitunter in den Fabriken an den salpeterhaltigen Zuckersäften beobachtet wurde.

Charakteristisch für die in Rede stehende Art, sowie deren Verwandten ist ferner ihre geringe Empfindlichkeit gegenüber hohen Chlorkalziumkonzentrationen, welche Eigenschaft sie zwar mit noch einigen anderen sporenbildenden Species und den Kokken teilen, die es aber doch ermöglicht, mit Hilfe eines auf die Verwendung von 5—6 Proz.  $\text{CaCl}_2$  enthaltender Bouillon gegründeten Anreicherungsverfahrens die betreffenden Bakterien auch aus Substraten zu gewinnen, in denen sie sich nur relativ spärlich vorfinden (Milch, Faeces, Waldboden), während dann, wenn Ackererde, speziell solche von Rübenfeldern, in Frage kommt, gewöhnlich schon die Aufbewahrung der Gußkulturen (Kartoffelagar, Fleischagar mit und ohne Glycerin- oder Rohrzuckerzusatz) bei einer Temperatur von 45—50° zum Ziele führt.

Auf diesem Wege wurden zwei nahe verwandte Arten, *Semicl. citreum* und *flavum* aus Kuhmist, eine Art *Semicl. rubrum* aus Ackererde isoliert. Wie gesagt, zeigten nur die Kartoffelkulturen einigermaßen charakteristische, in den Speciesbezeichnungen angedeutete Differenzen gegenüber *Semicl. commune*, und die Artunterschiede gründen sich somit im wesentlichen auf das deutlich verschiedene Verhalten bei den Agglutinationsversuchen. — Mit Hilfe dieses Verfahrens konnte auch die schon in anderer Hinsicht, speziell auf Grund des übereinstimmenden Verhaltens in Rohrzuckerlösung, naheliegende Identität verschiedener peptonisierender Milchbakterienstämme aus unvollständig sterilisierter Milch mit *Semicl. commune* nachgewiesen werden.

Die *Semiclostridium*-Gruppe umfaßt demnach auch jene alten Bekannten, die sich bei der Milchsterilisierung schon oft unangenehm bemerklich gemacht haben. Die außergewöhnliche Resistenz der Dauer-

formen wurde ebenfalls eingehend geprüft. Für den praktischen Betrieb ergibt sich hiernach, daß eine Vernichtung der Sporen wohl nicht zu erreichen ist, wohl aber die schädliche Tätigkeit der vegetativen Formen dadurch sicher verhindert werden kann, daß man die noch stark sporenhaltigen Vorprodukte nicht auf Temperaturen unter 60° abkühlen läßt.

Löhnis (Leipzig).

**Koning**, Biologische und biochemische Studien über Milch. Zweiter Teil: Die Zerlegungsphasen der Milch. [Uebersetzt von Johs. Kaufmann.] (Milchwirtsch. Centralbl. 1905. Heft 5.)

Im Anschluß an die in vorliegender Zeitschrift bereits besprochene Abhandlung des Verf. über die bakterizide Phase der Milch behandelt er die weiteren Zerlegungsphasen derselben.

Zweite Phase: Tritt im Sommer nach Ablauf einiger Stunden ein. Entwicklung vieler peptonisierender Fermente, Reaktion schwach alkalisch oder schwach sauer. Ein Labenzym des *Bacillus subtilis* und *Bacillus mesentericus* fällt Kasein.

Dritte Phase: Aërobe und anaërobe Säurebakterien bilden aus Laktose Milchsäure. Besonders: *Streptococcus acidilactici* Grotenfelt, *Bacillus acidilactici* Hueppe, *Bacillus acidiparalactici* Kozai, *Bacillus acidilactici* Grotenfelt.

Vierte Phase: Der die Albumosen und das peptonisierte Kasein stark angreifende *Bacillus faecalis alcaligenes* Petruschky tritt in den Vordergrund.

Fünfte Phase: *Bacillus acidiparalactici* Kozai vorherrschend.

Sechste Phase: Bei der Zerlegung treten höhere Fungi hervor. So: *Oidium lactis*, *Rhizopus nigricans*, *Penicillium glaucum*, verschiedene Mucorineen.

Siebente Phase: Entwicklung der anaëroben Buttersäurebakterien (*Granulobacillus*).

Achte Phase: Zerlegung der Säuren und der sonstigen Nährstoffreste durch Fungi. So: *Penicillium*, *Sporotrichum*, *Mucor*, *Monilia*, *Rhizopus*. Weitere Zersetzung durch *Bacillus faecalis*, *Proteus*, *Mesentericus*, *fluorescens*.

Hervorzuheben ist aus den weiteren Mitteilungen des Verf. noch, daß die spontane Zerlegung der Handelsmilch in einer bestimmten Gegend zur Bakterienflora dieser Gegend in Beziehung steht;

die bakteriologische Untersuchung eines Molkereiproduktes über die biochemischen Prozesse, die bei der Herstellung jenes Produktes vor sich gehen, Aufschluß geben kann. Paul Ehrenberg (Breslau).

**Bernard, N.**, Recherches expérimentales sur les Orchidées. (Rev. générale de Botanique. Paris. T. XVI. 1904. p. 405—451, 458—478. pl. XVIII—XIX. fig. 66—73.)

In seinen „Etudes sur la tubérisation“ (1902) hat der Verf. den Zusammenhang darzulegen gesucht, welcher zwischen den Entwicklungsarten der verschiedenen Orchideen und der Infektion dieser Pflanzen durch endophyte Pilze besteht, die sie gewöhnlich beherbergen. Die periodische Knollenbildung der Knospen ist eine Folge dieser Infektion.

Die neuen Untersuchungen des Verf. sind dem Studium der Bedingungen und der Erscheinungen bei der Keimung der Orchideen gewidmet. Sie gehen darauf aus: 1) Mit den Samen der Orchideen unter

streng antiseptischen Bedingungen in geeigneten sterilisierten Medien Aussaaten zu machen. 2) Die endophyten Pilze dieser Orchideen in Reinkulturen zu isolieren und mit Sicherheit zu identifizieren. 3) Für jede Art einen Vergleich zu ziehen zwischen dem Schicksal der antiseptisch ausgeführten und dem der durch den Endophyten infizierten Aussaaten.

Der Verf. hat hierbei folgende Resultate erhalten: Ein und derselbe Pilz wurde in Reinkulturen aus Orchideen erhalten, welche zu den Genera *Cypripedium*, *Cattleya* und *Spiranthes* gehörten. Samen von *Cypripedium*, *Cattleya*, *Laelia*, *Brassavola* und *Bletia*, welche unter Ausschluß eines jeden anderen Mikroorganismus mit diesem Pilz gesät wurden, haben normale, in regelmäßiger Weise infizierte Pflänzchen gegeben. Den erhaltenen Pilz kann man in die Nähe der schlecht definierten Gruppe der *Oospora* stellen.

Die Samen der Orchideen entwickeln sich nicht oder entwickeln sich nur unvollkommen in antiseptisch gehaltenen Medien. Sie entwickeln sich normal bei Gegenwart des Endophyten, nachdem dieser in gewisse Gewebe des Embryo und des Pflänzchens eingedrungen ist. Die studierten Fälle entsprechen drei ziemlich gut geschiedenen Typen: 1) Die Samen von *Cypripedium* sind unter antiseptischen Bedingungen zu keinerlei Entwicklung fähig. 2) Die Samen von *Cattleya* können mehrere Monate in Abwesenheit des Endophyten leben, gewisse Gewebe differenzieren und die doppelte Größe erreichen, indem sie Kügelchen bilden. Der Zustand des Kügelchens kann nur nach vollzogener Infektion überschritten werden. 3) *Bletia hyacinthina*, deren Samen relativ stark differenziert sind, haben einen Embryo, der sich differenziert und in unter antiseptischen Bedingungen ausgeführten Kulturen Blätter, Stengel und Absorptionshaare entwickelt. Nach der Infektion vollzieht sich die Entwicklung mit Regelmäßigkeit.

Der endophyte Pilz hat also einen unbestreitbaren Einfluß auf die Entwicklung der Pflanzen, die er infiziert, und ruft besonders ihr Wachstum hervor. Wenn sich die Infektion an wenig differenzierten Organismen wie an den Kügelchen von *Cattleya* vollzieht, so bewirkt sie ein vorzeitiges und abnormes Wachstum, welches zur Bildung eines embryonären Tuberkel führt. Diese Einwirkung auf das Wachstum macht sich auf die Entfernung hin geltend. Niemals infiziert sich eine im Wachstum befindliche Zelle; jede Zelle, die sich infiziert, hört auf zu wachsen und sich zu vermehren.

Die Arbeit schließt mit einigen den Gartenbau interessierenden Ratschlägen und mit mehreren theoretischen Bemerkungen, welche auf die neuesten Arbeiten Bezug nehmen und die Art der Wirkung des Endophyten, die Entwicklung der Orchideen und die Knollenbildung zum Gegenstand haben.

Houard (Paris).

**Wels, Fr.,** Bakterielivet i Jordbunden, og dets Betydning for Jordbruget. (Tidsskrift for Landbrugets Planteavl. Bd. XII. 1905. p. 130—179.)

Verf. gibt eine ziemlich ausführliche Zusammenstellung von den Resultaten der Bodenbakteriologie. — In dem ersten Abschnitt werden die Bedingungen für die Fruchtbarkeit des Bodens behandelt, und hier wird auf die große Bedeutung, die die biologischen Verhältnisse des Bodens auf dessen Fruchtbarkeit ausüben, hingewiesen. Während die Bodenkunde überwiegend eine mineralogisch-geologische, phy-

sikalisch-chemische Disziplin ist, meint der Verf., daß dieselbe nun hauptsächlich ein biologisches Fach werden dürfte.

Hierauf folgt eine Schilderung von dem Vorkommen und der Verbreitung der Bakterien, Verwesungs- und Fäulnisprozesse, Nitrifikation, Denitrifikation und Eiweißbildung, sowie die Bindung des atmosphärischen Stickstoffes durch die Wirksamkeit von Knöllchenbakterien und freilebenden Bakterien. Während der Besprechung des gegenseitigen Verhältnisses der Denitrifikation und Eiweißbildung im Boden schließt sich Verf. am meisten der Anschauung an, die in den späteren Jahren unter den Agrikulturbakteriologen mehr und mehr herrschender geworden ist, daß der schädliche Einfluß der unzersetzten organischen Stoffe für die Ausnutzung des Salpeterstickstoffes durch die Pflanzen im höheren Grade auf die Eiweißbildung als Denitrifikation zurückzuführen ist.

Der Abschnitt betreffend die Bindung des elementaren Stickstoffes durch Zusammenwirken mit höheren Pflanzen und Bakterien hat die ausführlichste Besprechung erhalten. Hier wird eine kurze historische Uebersicht und eine Schilderung von Hellriegels, Beijerincks, Prazmowskys, Noblus, Hiltners u. a. Forscher Arbeiten auf diesem Gebiete gegeben. Weiter werden die zwei Nitraginpräparate, die jetzt Anwendung in der Praxis gefunden haben, besprochen, von welchen die eine auf der agrikulturbotanischen Anstalt in München (nach Hiltners Methode) und die andere auf der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Wisconsin (nach Moores Methode) hergestellt wird.

Während der Behandlung der Wirksamkeit der freilebenden stickstoff-assimilierenden Bakterien werden die Arbeiten von Beijerinck, betreffend „Azotobacter“, sowie auch die Arbeiten von Winogradsky, betreffend *Clostridium Pasteurianum*, ziemlich ausführlich besprochen und weiter Bertholds und Henrys Untersuchungen über die Stickstoffbindung im Boden und im Walde niedergefallenen Laubes.

Im letzten Abschnitt: „Die Bedeutung der Bakteriologie für den Ackerbau“ macht Verf. auf die große Bedeutung aufmerksam, welche eine größere Kenntnis des Bakterienlebens im Boden und speziell den gegenseitigen Verhältnissen der verschiedenen mikrobiologischen Prozesse haben wird. — Schließlich schildert Verf. kurz die Einflüsse, die die Wasserverhältnisse des Bodens, die Düngung mit Stallmist und Jauche und mit künstlichen Düngemitteln, sowie die Bodenbearbeitung (speziell die Brache) auf das Bakterienleben des Bodens ausüben.

Harald R. Christensen (Kopenhagen).

**Volpino, Guido**, Sopra un interessante microorganismo radunatore d'azoto isolato dal terreno. (Estratto dalla Rivista d'igiene e sanità pubblica. Anno XVI. 1905.)

Verf. hat aus dem Erdreich einen Keim isoliert, welcher sich entschieden als Ansammler von Stickstoff verhält und aus diesem Grunde Beachtung verdient.

Fraglicher Keim ist im Erdreich stark verbreitet.

Um die Isolierung dieses Keimes zu bewerkstelligen, erweist sich die übliche Methode mit Gelatineplatten als unsicher, obgleich der Mikroorganismus sich auch auf diesem Nährboden entwickelt, denn er wird durch andere Arten leicht verletzt; sehr geeignet erweisen sich dagegen Platten von Kieselanhydrit, welche 3 Tage lang dialysiert



und hernach vermittle einer Lösung von 1-proz. Kaliphosphat gelatinisiert worden sind.

Wenn auf einer Kieselanhidritplatte mit einem von Erdreich infizierten Ausstriche gemacht werden, entwickelt sich auf Platten von Kieselanhidrit der Mikroorganismus, indem er kleine, wie Bleche, undurchsichtige rundlich geformte Kolonien mit schwachen Rändern erzeugt, und bei der Entwicklung, welche in 8—10 Tagen vollkommen erscheint, ein sehr dünner Schleier auftritt, welcher die Oberfläche des Kulturterrains in einer gewissen Ausdehnung überzieht. Manchmal erscheint die ganze Ausdehnung der Streifen von der Kultur bedeckt, infolge Zusammenfließens der einzelnen Kolonien. Bei geringer Vergrößerung unter dem Mikroskop betrachtet, erscheinen diese Kolonien durchgängig schwarz, sie bilden deutlich ein Netz geästeter Fäden und gewinnen dadurch eine gewisse Ähnlichkeit mit den Kolonien der Gruppe der Streptotricheen.

Löst man mittelst einer Platinöse eine kleine Menge dieser Kolonien ab, so ergibt sich, daß dieselbe eine ins Weiche gehende Härte besitzt, eine Eigenschaft, vermöge welcher sich dieselben von den durch eigentliche Streptotricheen gebildete Kolonien unterscheiden, diese zeichnen sich nämlich durch große Dichtigkeit und Adhärenz an den Nährboden aus.

In den Präparaten im hängenden Tropfen nimmt man unbewegliche Bacillarformen und Coccusbacillenformen wahr, welche in der Längsrichtung vereinigt sind und zuweilen geästete Fäden bilden, dergleichen fadenförmige Bildungen sind jedoch immer kurz (20—50  $\mu$ ). Sporenähnliche Bildungen werden nicht beobachtet.

Auf Kieselanhidrit kann sich der Keim regelmäßig in Serien entwickeln, obwohl fast jeder Fremdstoff mittels sorgfältiger Dialysierung entfernt und dem Substrat keinerlei stickstoffhaltige Komposition beigemischt worden war.

Diese Kulturen sind im Termostaten bei 30 ° und gewöhnlicher Temperatur in den Räumen des Laboratoriums erzeugt worden, wobei der Nährboden, in kleinen Petri-Schalen verwahrt, vor Austrocknung geschützt wurde.

Unter gleichen Bedingungen wurden, zwecks geeigneter Vergleiche, sterile Platten bereit gehalten.

Nach 6—8—10—15—20 Kulturtagen wurde in den einzelnen Schalen Kulturportionen und Kieselanhidrit mit einem Porzellanspaten gesammelt, worauf der Stickstoff nach der Methode Kjeldahl in den kultivierten Platten sowohl als in den steril gebliebenen dosiert wurde.

Wie nachstehende Tabelle zeigt, ist eine erhebliche Vermehrung von Stickstoff in den Kulturplatten im Vergleich zu den steril gebliebenen konstatiert worden.

Datum	Zahl der Versetzungen	Kulturtag	Stickstoff der Kulturplatten in mg	Stickstoff der steril. Platten in mg	Kubikcentimeter des Kulturbodens per Platte
1903 15. Dez.	10	6	1	1	20
1903 20. Dez.	13	15	12	1,3	20
1904 30. Jan.	17	10	9	0,8	20
1904 25. Febr.	20	10	8	0,2	20

Diese außerordentlich große Menge Stickstoff, welche auf 1000 ccm berechnet, einen Durchschnitt von 400 mg überschüssiger Stickstoffmenge für die Kulturplatten gab, wird von dem Mikroorganismus offenbar von der Luft abgenommen.

Außer der Fixierung von atmosphärischem Stickstoff ergeben die Kulturen auf Platten von Kieselanhydrit noch eine interessante Besonderheit, und zwar die, daß es dem Autor mit großer Leichtigkeit gelungen ist, denselben in Serien für viele Generationen auf Substraten zu kultivieren, denen absichtlich keine Kohlenhydrate hinzugefügt worden waren und welche nur minimale Spuren davon enthielten, man muß nun daraus folgern, daß der Bedarf an Kohlenstoffnahrung für diese Keime sehr gering ist, und daß derselbe vielleicht die Fähigkeit hat, außer Stickstoff auch einen Teil des Kohlenstoffs der atmosphärischen Luft zu entnehmen.

Der fragliche Keim ist jedoch kein eigentliches Azotobakterium. Wird derselbe in einem Raum gehalten, welcher nicht die geringste Spur von Ammoniak aufweist, so genügt dies, um dessen Eigenschaft, Stickstoff zu sammeln, rasch sinken zu machen.

Bertarelli (Turin).

**Maire, R.,** La formation des asques chez les Pezizes et l'évolution nucléaire des Ascomycètes. (C. R. de la Société de Biologie. 10. nov. 1903).

Dangeard hat gezeigt, daß sich die Asken auf Kosten eines hakenförmig gekrümmten Fädchen entwickeln, in welchem 2 Scheidewände eine binukleäre Zelle abteilen, die in der Krümmung des von zwei uninkleären Zellen gebildeten Häkchens liegt. Eine dieser Zellen bildet den Stiel, die andere die äußerste Spitze des Häkchens. Aus der binukleären Zelle entwickelt sich der junge Ascus, nachdem sie ihre Kerne miteinander verschmolzen hat. Dieser Entwicklungsmodus findet sich bei *Pustularia vesiculosa*, *Acetabula calyx*, *Helvella ephippium* etc. Harper fand ihn gleichfalls bei *Pyronema confluens*.

Bei *Galactinia succosa* bildet ein aus 2 bis 3 linearen binukleären Zellen bestehendes Fädchen den Ascus; bei der letzten dieser Zellen verschmelzen die Kerne, und so wird sie die Mutterzelle des Ascus. Bei *P. vesiculosa* hat der Verf. gleichfalls diesen Entwicklungsmodus als ziemlich häufige Unregelmäßigkeit beobachtet.

Bei *Acet. acetabulum* konstatiert er die Bildung von Häkchen analog denjenigen bei *P. vesiculosa*, doch entwickelt die binukleäre Zelle der Krümmung des Häkchens 2, 3 oder 4 binukleäre Zellen, anstatt selbst den Ascus zu bilden. Die letzte der neu entstandenen Zellen wird dann die Mutterzelle des Ascus.

Diese Bildungen erinnern durchaus an die der Basidien. Wir haben also bei den Ascomyceten Bildung von Synkarion, aber diese Bildung steht fast immer in unmittelbarem Zusammenhange mit der Verschmelzung der Kerne.

Die nukleäre Evolution der Ascomyceten ist also gleich der Basidiomyceten, aber während bei den letzteren der Kernrest das Synkarion überwiegt, hat bei den Ascomyceten der Kernrest die Oberhand.

Guilliermond (Lyon).

**Falek, Richard,** Die Sporenverbreitung bei den Basidiomyceten und der biologische Wert der Basidie. (Beiträge zur Biologie der Pflanzen von F. Cohn, herausgegeben von O. Brefeld. Bd. IX. Heft 1. 1904 Breslau. p. 1—82.) Mit 6 Tafeln und 2 Textabbildungen.

Leider ist es unmöglich, auf alle Resultate, die Verf. in seiner geistreichen äußerst interessanten Arbeit gibt, hier näher einzugehen. Wir beschränken uns auf folgende Punkte:

1) Welchen Zweck hat die Bildung der Sporen der Basidiomyceten überhaupt, wenn sie nicht keimfähig sind, wie dies die bisherigen Forschungen bei den meisten Formen ergeben haben? Die Untersuchung dieser Frage ergab ein negatives Resultat. Man glaubte allgemein, daß Maden und andere Tiere, welche den Nährstoffen der Hutpilze ihr Dasein verdanken, auch die Verbreiter der Pilzsporen seien; doch die den Leib passierten Sporen keimten nicht. Ebenso verhielt es sich mit den Sporen von *Collybia* und von Brandpilzen. Gegenteilig verhalten sich die Sporen der mistbewohnenden Basidiomyceten und der Ascomyceten; bei diesen erhalten die Sporen oft erst nach dem Passieren des Darmes die volle Keimfähigkeit. Es ergab sich anschließend die Frage, ob die Sporen der Basidiomyceten, deren Keimung bisher nicht beobachtet werden konnte, vielleicht erst eine Ruheperiode durchmachen müssen, bevor sie keimfähig werden. Es wurden Arten von *Cantarellus*, *Boletus*, *Russula*, *Gasteromyceten* etc. untersucht. Aber die Versuche fielen auch negativ aus. Dafür hat Verf. folgende Fragen erfolgreich gelöst:

2) Welchen Sinn hat die Ausbildung der mächtigen Hutpilze mit ihren reichen Nährstoffmengen, die für die Sporenbildung nur zum geringsten Teile verwertet werden?

3) Wozu dient die Ausbildung der großen Menge der Sporen, wenn sie über den Bereich des eigenen Hutes nicht wesentlich hinausgelangen?

Und mit diesen letzten 2 Fragen befaßt sich vorzugsweise die vorliegende Arbeit, welche in eine Anzahl von Kapiteln zerfällt:

I. Unsere bisherigen Kenntnisse über die Sporenverbreitung bei den Basidiomyceten.

II. Die Verbreitung der Basidiensporen über die unter den Fruchtkörpern befindlichen Flächen. Die Sporen der Hutpilze werden in geschlossenen, gegen äußere Luftströmungen gesicherten Räumen mehr als meterweit nach allen Richtungen auf die darunter befindliche Fläche verbreitet. Diese ist um so größer, je größer der Fruchtkörper ist. Bei den Polyporeen findet die gleichmäßigste Bestreuung der Unterlage statt (bei Nacht), bei Agaricinen findet man radial verlaufende Ausbreitungslinien vor, die ganz unabhängig vom Verlaufe der Lamellen sind. Solche Linien findet man bei Ausstreuung der Sporen bei Licht bei allen Pilzen; sie stammen mit der Richtung der einfallenden Lichtstrahlen überein.

III. Verbreitung der Sporen in dem umgebenden Raum. Die Hutpilze verbreiten die Sporen allseitig in den Raum hinein; sehr große Exemplare können selbst ein kleines Zimmer vollständig und gleichmäßig mit ihren Sporen erfüllen. Insbesondere können sie von unten nach oben sehr weit emporsteigen. Stellt man Flächen in den Raum, so verbreiten große Polyporeenfruchtkörper die Sporen fast unabhängig vom Lichte gleichmäßig über alle Flächen.

IV. Ueber die Einflüsse, die Licht und Wärme auf die Sporenverbreitung ausüben. Die letztgenannten zwei Faktoren veranlassen auf

den Flächen des Raumes die charakteristischen im Sinne ihrer Einwirkungsrichtung verlaufenden Ausbreitungslinien der Sporen.

V. Ueber den Einfluß der Beschaffenheit der Flächen. Es wird stets nur die Oberfläche von Körpern bestreut und zwar in allen Neigungen bis in die Nähe der senkrechten Lage. Je mehr Flächen in einem geschlossenen Raume, um so geringer die Dichtigkeit der Bestreuung auf der Flächeneinheit. Die Beschaffenheit der Flächen spielt keine Rolle; daher findet in der Natur auf weite Strecken hin eine Bestreuung statt.

VI. Die Sporenverbreitung der Hutpilze in zeitlicher Folge. Wahrscheinlich tritt kein zeitweiser Stillstand tagelang in der Sporenausstreuerung ein, wie dies bei den Ascomyceten bemerkt wurde.

VII. Der Einfluß der räumlichen Lagerung der Basidien auf die Ausbreitung der von ihnen gebildeten Sporen. Die Abstoßung der Sporen von ihren Basidien erfolgt aktiv in jeder Lage unabhängig von Licht- und Schwerkraftsreizen, sobald dieselben reif geworden sind. Sie fallen zuerst eine kurze Strecke senkrecht. Erst in einem unter den Hymenophorensystemen befindlichen genügend hohen Raume verbreiten sie sich seitswärts in den Raum. Ist der Pilzfruchtkörper unter einer Glocke mit Chloroformdämpfen aufgestellt, so läßt er keine Sporen mehr fallen, ein Zeichen, daß sie aktiv abgestoßen werden.

VIII. Wärmebildung als die Ursache der selbsttätigen Sporenverbreitung bei den Basidiomyceten. Verf. bewies durch eine Reihe sehr sinnreicher Versuche, daß die Hutpilze durch Wärmebildung unmerkliche Luftströmungen erzeugen und dadurch selbsttätig ihre Sporen in den umgebenden Raum verbreiten.

IX. Ein Apparat in Pilzform zur Verbreitung feinsten Pulver, mit Abbildung.

X. Das Wesen und die Bedeutung der durch geringe Temperaturunterschiede hervorgerufenen Luftströmungen. Denselben mißt Verf. auch sonst im Haushalte der Natur eine große Rolle zu. Dieses Kapitel ist physikalisch gut durchgearbeitet.

XI. Der biologische Wert der Basidie. Sie hat die Funktion, die Sporen dadurch, daß jede derselben ein besonderes Sterigma besitzt, zu vereinzeln, sie vermöge der senkrechten oder wagerechten Lage in einen freien Luftraum fallen zu lassen, indem aktive Abstoßung erfolgt. Verf. entwirft eine Tabelle über die vergleichende Bewertung der wichtigsten Sporenverbreitungsorgane bei den Pilzen:

Sporenverbreitungsorgan	Morphologisch (nach Gestalt) bewertet	Physiologisch (nach Funktion) bewertet	Biologisch (nach Zweck) bewertet
Zoosporangium bildet (Oomyceten)	Ciliensporen	Schwimmsporen	Wassersporen
Sporangium bildet (Zygomyceten)	Plasmasporen	Klebsporen	Kontaktsporen
Ascus bildet (Ascomyceten)	Schlauchsporen	Schleudersporen	Luftsporen { Zielsporen Windsporen Schwebesporen
Konidienträger bildet	Trägersporen	{ a) Aggregatsporen b) Schüttelsporen	
Basidie liefert	Basidiensporen	Fallsporen	

XII. Ueber die Verbreitung der Sporidien bei den Rostpilzen. Sporidien werden durch feinste Luftströmungen verbreitet. Bei *Gymnosporangium juniperinum* erfolgt die Verbreitung der Sporen ge-

nau so wie bei den übrigen Basidiomyceten. Die Wertungen der Sporenformen bei den Uredineen zeigt folgende Tabelle:

Gebräuchlicher Name	Morphologischer Wert	Physiologischer Wert		Biologischer Wert für die Verbreitung
		für die Verbreitung	für den Befall	
Teleutosporen	Chlamydosporen	Frühjahrssporen	Epidermissporen- bildner	Ueberwinte- rungssporen
Sporidien	Basidiosporen	Fallsporen	Epidermissporen	Schwebesporen
Aecidien und Uredosporen	Chlamydosporen	Aggregatsporen	Spaltöffnungs- sporen	Windsporen
Pyknosporen	Konidien	Riechsporen	Narbensporen (?)	Insektensporen(?)

XIII. Der Sinn der Fruchtkörperbildung bei den Basidiomyceten. Die Hutpilze sind diejenigen Organe der Basidiomyceten, die lediglich die Funktionen haben:

1) Möglichst vielen Basidien selbständig die für die Bildung von Fallsporen zweckmäßigste Anordnung und Lagerung im Raume zu erteilen und 2) Luftströmungen zu erzeugen, die eine selbsttätige Weiterverbreitung der Fallsporen in den umgebenden Luftraum herbeiführen.

XIV. Die ökogenetische Weiterentwicklung der Basidiomycetenfruchtkörper und der Wertverlust der Basidie. Die Basidie ist ein durch Anpassung entstandenes Organ; bei den Gasteromyceten hat sie ihre Funktionen und Wertungen verloren.

XV. Die Bedeutung der Sporenverbreitung bei den Basidiomyceten im Haushalte der Natur und des Menschen.

Die Basidiomyceten bauen die von den grünen Pflanzen aufgebauten Holz- und Bastfasermassen wieder ab, bevor sie humifizieren; sie zerstören aber auch den Holzkörper lebender Bäume. Für den letzteren Fall spielt die Infektion an den oberirdischen Pflanzenteilen die größte Rolle, denn jeder größere Wind schafft neue Infektionsstellen. Daß dennoch nicht so viele Infektionen eintreten, ist darauf zurückzuführen, daß das Plasma lebenskräftiger Zellen das Eindringen der Keime verhindern kann und daß z. B. Harz abgeschieden wird. Die Infektionsstellen am Baume finden wir nicht, wohl aber kann eine Sporenverbreitung durch Umstoßung des Fruchtkörpers kurz vor Beginn derselben stattfinden. Auch *Merulius lacrymans* und *Polyporus vaporearius* streuen ihre Sporen selbsttätig in den Raum; eine Infektion im Neubaue ist unmöglich, wohl aber auf den Holzlagerplätzen — und dort fand Verf. stets den einen oder anderen Pilz, z. B. auch *Lenzites seiparia*, *Coniophora cerebella*. Auch im Walde kann die Infektion erfolgen, worüber Verf. in einer späteren Arbeit berichten wird. *Merulius* speziell ist viel häufiger im Walde und auf Zäunen vorhanden als es den Anschein hat; die Entwicklung des Fruchtkörpers bis zu den reifen Sporen geschieht außerordentlich rasch. Die Ansicht des Verf. deckt sich da ganz mit der von Hennings und A. Möller. Im Walde ist die Luft mit Sporen der Holzzerstörer erfüllt; wird die kleine Infektionsstelle mit Kupfersulfatlösung bestrichen, so wird sicher die Infektion verhindert. Die weitere Verarbeitung der Hölzer hat außerhalb des Waldes zu erfolgen; auf den Stapelplätzen müssen allerdings die Fruchtkörper unbedingt entfernt werden. Alles alte Holz, besonders die Unterlage darf hier nicht geduldet werden. Man würde vieles erreichen, wenn polizeiliche Vorschriften existieren würden. Möglich ist

es, daß andere Pilze noch stärkere Holzerstörer sind als die genannten; denn in Reinkulturen konnten nach Verf. bisher keine Fruchtkörper erzielt werden bei *Polyporus versicolor*, *Lenzites sepiaria*, *Corticium giganteum* etc.

Anschließend daran entwirft Verf. ein interessantes Bild, wie die Fäkalien möglichst schnell und vollständig dem Kreislaufe des Stoffwechsels wieder zugeführt werden.

XVI. Die Organisation als System von Lebenseinheiten. Es sind dies geistreiche Zusammenstellungen. — Die Tafeln sind nach Photographieen ausgeführt und ausgezeichnet gelungen.

Matouschek (Reichenberg).

**Busse, Reisebericht III der pflanzen-pathologischen Expedition des Kolonialwirtschaftlichen Komitees nach Westafrika. (Tropenpflanzer. 1905. Heft 5.)**

Bei einem zweiten Aufenthalt in Kamerun, während dessen Verf. auch die bisher nicht besuchten Pflanzungen Bamba, Mabeta, Soppo, Molyko und Bolifamba berührte, wurden Infektionsversuche mit der *Phytophthora*- und *Colleotrichum*-Fäule gemacht, wobei die Uebertragbarkeit der Krankheit durch vorjährige faule Früchte und Schalen zur experimentellen Prüfung kam. Bei *Colleotrichum*-Fäule gelang die Uebertragung häufig, während die *Phytophthora*-Fäule vorläufig das entgegengesetzte Ergebnis erkennen ließ, und überhaupt nicht zu einer Infektion führte.

Neu aufgefunden wurde eine Hexenbesenkrankheit des Kakao, durch Pilzwucherung veranlaßt, jedoch nicht identisch mit dem in Surinam als „Krulloten“ bekannten Hexenbesen. Der sehr langsam fortschreitenden Krankheit dürfte man durch rechtzeitiges und gründliches Beschneiden entgegenzutreten können.

Nach wie vor sind für den Kameruner Kakao die Braunfäule, nach ihr die Rindenwanze als die verderblichsten Schädlinge zu bezeichnen. Zu einem erfolgreichen Vorgehen gegen beide würde besonders gehören, daß auch die eingeborenen Kakaopflanzer durch Belehrung und im Notfalle durch Zwang zu Vertilgungsmaßregeln angehalten würden, so daß eine einheitliche Bekämpfung, die zur Zeit überhaupt fehlt, einsetzen könnte.

Eine direkte Bekämpfung der Braunfäule ist übrigens mangels eines geeigneten Mittels noch nicht möglich, sondern nur Beseitigung der kranken Pflanzenteile. Dagegen ist bei der Rindenwanze eine Mischung von

40 g Schweinfurter Grün  
3 l Petroleum  
1000 g Seife  
1000 g Soda  
100 l Wasser

mit gutem Erfolg als Angriffsmittel benutzt worden, während Kalkanstrich, Quassialösung, Schwefelleber und Schwefelcalcium wie ähnliche Mittel nichts Besonderes leisten. Um die Leistung der Arbeiter kontrollieren zu können, setzt man der genannten Mischung noch 1—2 kg Kalk zu. Die 1000 g Soda sind eventuell fortzulassen.

Weiter ist, da die Rindenwanze ihre Eier höchstwahrscheinlich an den von schülferiger Borke bedeckten, früher angesaugten Stellen älterer Triebe absetzt, die Entfernung und das Verbrennen jüngerer, ange-

saugter Triebe, sowie der betreffenden Borkenstellen an älteren Sprossen notwendig.  
Paul Ehrenberg (Breslau).

**Ducomet, V.,** La brunissure des végétaux et sa signification physiologique. (C.-R. assoc. franç. avanc. sci. 32<sup>e</sup> sess. Angers 1903. 2<sup>e</sup> partie. p. 697—707.)

Verf. erinnert an die Studien von Pastre, Viala et Sauvageau, die sämtlich von dem parasitären Charakter des Braunwerdens überzeugt waren und es der Wirkung von *Plasmodiophora Vitis* zuschrieben. Seit 1894 bestritten einige Botaniker, unter ihnen Cavares, Masee, Ray, Geffroy etc. die bisher erzielten Resultate, und seit 1900, wo Verf. „Untersuchungen über die „Brunissure“ der Pflanzen“ erschienen, existierten zwei einander befehdende Schulen. Für die einen war die „Brunissure“ eine durch Parasiten verursachte Krankheit, für die anderen war sie physiologischer Natur. Und Ducomet zog aus den drei wesentlichsten Resultaten folgende Schlüsse:

- 1) Die charakteristischen und isolierbaren Produkte der Krankheit können nicht kultiviert werden.
- 2) Methodisch gemachte Impfungen ergaben kein Resultat.
- 3) Alle makro- und mikroskopischen Merkmale der Krankheit können experimentell erzeugt werden.

Folglich ist die „Brunissure“ eine einfache physiologische Erscheinung. Die *Plasmodiophora* (vel. *Pseudocommis vitis* muß in ihrer Eigenschaft als lebender Organismus ausgeschaltet werden.

Verf. kommt in seiner neuen Arbeit, wo er die Natur der im Innern der kranken Zellen beobachteten Störungen genau untersucht, zu denselben Resultaten. Die „Brunissure“ darf nicht als eine spezifische Krankheit aufgefaßt werden. Es handelt sich einfach um eine Zelldegeneration unter der Wirkung einer Gleichgewichtsstörung der Ernährung, die unter dem Bilde eines morphologisch bestimmten Prozesses zum Tode führt. Die beobachteten Veränderungen sind einfach das Resultat einer Exosmose des Cytoplasmas und der Leuciten, die langsam genug ist, um diesen beiden Zellelementen eine ihre gegenseitigen Beziehungen, ihren eigenen physischen Aufbau und ihre molekulare Organisation modifizierende Reaktion zu gestatten.

Die „Brunissure“ ist ein Beginn des „Rostes“ (grillage); sie weist alle makro- und mikroskopischen Merkmale der in der Zerstörung begriffenen Gewebe auf, welche sich im Umkreis des durch Parasitismus vieler sogenannter fleckenbildender Pilze entstandenen Flecke befinden.

Die braunen, tanninhaltigen intraepidermalen Kügelchen werden oft durch ein amorphes, von „Brunissure“ begleitendes Gerinnsel ersetzt, welches das doppelte Resultat der direkten Oxydation der Tanninverbindungen und ihrer Wirkung auf das Protoplasma selbst ist, nachdem Ruptur der Hydroleuciten unter der Wirkung der schnellen Exosmose des Wassers stattgefunden hat.

Alle die Ursachen, welche die Exosmose über ihre normalen Grenzen hinaus steigern können, bilden die bestimmenden Faktoren der Erscheinung. Diese Ursachen sind mannigfach und wirken häufig. Es ist also nicht erstaunlich, daß Debray und Roze die Allgemeingültigkeit ihrer *Pseudocommis* verkündet haben. Ihre Schlußfolgerungen decken sich mit denen von Ducomet, jedoch mit dem bedeutenden Unterschiede, daß dasjenige Element, welches sie als einen der Zelle fremden Organismus betrachten, vom Verf. als Resultat des Zellentodes infolge eines bestimmten Vorganges angesehen wird. Houard (Paris).

**Schouteden, H.**, Description d'Aphides cécidogènes nouveaux. (Ann. Soc. Ent. Belgique. T. XLVIII. 1903. p. 194/195.)

Verf. ändert seinen *Aphis spiraeae* in *Aphis spiraeella* um, beschreibt dann *Myzus ajugae*, welches ein Aufrollen des Blattrandes von oben her bei *Ajuga reptans* und *Ajuga genevensis* bewirkt, ferner *Aphis brunellae*, wodurch die Blätter von *Brunella vulgaris* zusammenschrumpfen und der Blattrand sich von oben her aufrollt, endlich *Aphis leontopodii*, welche am Blütenstand von *Leontopodium alpinum* Mißbildungen erzeugt. Houard (Paris).

**Houard, C.**, Recherches anatomiques sur les galles de tiges: Acrocécidies. (Ann. Soc. nat. Paris. Bot. 8<sup>e</sup> sér. T. XX. 1904. p. 289—384. 189 fig.)

Diese neue Arbeit bildet die Fortsetzung von derjenigen, welche sich auf die lateralen Gallen bezog und im Jahre 1903 erschienen ist. Sie vervollständigt die vom Verf. unternommenen Untersuchungen über die Stengelgalien. Wie in dem vorausgehenden Werke, sind die behandelten Cecidien nach ihren morphologischen Affinitäten in eine Anzahl von Kapiteln vereinigt. Als Ursache für die Affinitäten sind anzusehen: 1) Die Lokalisierung der Parasiten in der Spitze der Stengel. 2) Ihre äußere oder innere Lage. 3) Der Einfluß, den sie auf die oberen Internodien ausüben, welche kürzer als im normalen Zustande bleiben und sich verdicken.

Kap. I. Terminale Stengelcecidien, durch einen äußeren Parasiten hervorgerufen; die Internodien sind wenig verkürzt: *Eriophyes geranii* auf *Geranium sanguineum*, *Aphis grossulariae* auf *Ribes rubrum* und *Ribes aureum*, *Aphididae* auf *Abies nobilis*.

Kap. II. Terminale Stengelcecidien, durch einen äußeren Parasiten hervorgerufen; die Internodien sind sehr verkürzt: *Perrisia genisticola* auf *Genista tinctoria*, *Perrisia capitigena* auf *Euphorbia cyparissias*, *Oligotrophus taxi* auf *Taxus baccata*, *Eriophyes Thomasi* und *Janetiella thymicola* auf *Thymus Serpyllum*, *Myricomyia mediterranea* auf *Erica vagans*, *Perrisia ericina* auf *Erica arborea*, *Perrisia ericaescopariae* auf *Erica scoparia*.

Kap. III. Terminale Stengelcecidien, durch einen inneren Parasiten hervorgerufen: *Isosoma graminicola* auf *Agropyrum repens*, *Isosoma* sp. auf *Agropyrum* (*Triticum*) *juncum*, *Lonchaea lasiophthalma* auf *Cynodon Dactylon*.

Zahlreiche, sehr klare Figuren, welche sich auf die äußere Morphologie oder die histologischen Strukturverhältnisse beziehen und den Text vervollständigen, begleiten die Beschreibung einer jeden Cecidie. Die Entwicklung dieser und die anatomischen Veränderungen, welche sie am Stengel bewirkt, sind mit Sorgfalt behandelt. Schließlich begleitet eine knappe Zusammenfassung das Studium einer jeden Galle. Am Schlusse eines jeden der großen Kapitel selbst befindet sich eine die Einzelheiten berücksichtigende Zusammenfassung, sowie eine schematische Figur, welche die für ein jedes Kapitel charakteristischen allgemeinen Merkmale der Cecidien wiedergibt.

Wir teilen die aus dieser Arbeit über die Acrocecidien hervorgehenden Resultate im folgenden mit, indem wir sie wörtlich wiederholen:

1) Cecidogene Tätigkeit. — Der Parasit verändert den Vegetations-



punkt des Stengels und veranlaßt eine cecidogene Wirkung, welche sich in den benachbarten Geweben durch die Erscheinungen der Hypertrophie und der Hyperplasie der Zellen zu erkennen gibt.

2) Veränderungen in den Internodien des Stengels. — Die cecidogene Tätigkeit vermindert das Längenwachstum des Stengels oder hält es gänzlich auf. Die oberen Internodien bleiben kurz und ihr Durchmesser nimmt infolge der Reaktion der Pflanze zu; sie erleiden wichtige anatomische Veränderungen (Borke und Mark sind im allgemeinen mehr entwickelt; die Gefäßbündel sind zahlreich, ohne Zusammenhang, unregelmäßig und ohne Orientierung) und einen Stillstand in der Differenzierung ihrer Gewebe (innere sekundäre Bildungen wenig zahlreich, Abwesenheit von peridermen Elementen).

3) Veränderungen der oberen Blätter des Stengels. — Das Aufhören des Wachstums der Internodien bewirkt eine Verlangsamung in dem Längenwachstum der zugehörigen Blätter. Diese werden breiter, dicker und bedecken sich mit Haaren. Ihre anatomische Struktur ist im allgemeinen sehr verändert und zeigt besonders einen großen Stillstand in der Differenzierung der Gewebe (Abnahme des chlorophyllhaltigen Gewebes; Spaltöffnungen unregelmäßig, zerstreut und ohne Ordnung; Gefäßbündel zahlreicher, hypertrophiert, mit unregelmäßigem, primärem Holz und mit wenig zahlreichen sekundären Bildungen).

4) Gestalt der Cecidie, Symmetrieachse. — Die Internodien verlängern sich nicht, die Blätter sind gehäuft und das Ganze nimmt ein buschiges Aussehen an; es gleicht einer Artischocke oder einer großen Knospe, je nach der Intensität der cecidogenen Wirkung.

Diese Wirkung gibt sich mit derselben Intensität nach allen Richtungen um den Parasiten herum zu erkennen. Da dieser in der Nähe des Vegetationspunktes liegt, d. h. in der Achse des Stengels, so hat dieses zur Folge, daß die hypertrophierten Blätter in ihrer Gesamtheit eine Gallenmasse bilden, welche dieselbe Symmetrieachse behält.

5) Blattstellung. — Die Stellung der Blätter bei den Stengel-Acrocecidien bleibt normal, d. h. bestätigt die Blattstellungstheorie von Schwendner.

6) Einfluß der Galle auf die Verzweigung. — Nachdem das terminale Wachstum des Stengels unterbrochen ist, können sich kleine Ersatzzweige entwickeln. Wann sich der Parasit entfernt hat, kann der obere Teil des Stengels wieder anfangen zu wachsen und die veränderten Internodien strecken sich von neuem. Houard (Paris).

**Frayse, A.**, Sur la biologie et l'anatomie de l'*Osyris alba* (C. R. Acad. sc. Paris. T. CXL. 1905. p. 270—271.) — Sur le parasitisme de l'*Osyris alba*. (Ibid. T. CXL. 1905. p. 318—319.)

Der Parasitismus von *Osyris alba*, welcher im Jahre 1859 durch Planchon bekannt wurde, ist darauf nacheinander von Chatin, von Solms-Laubach et Granel studiert worden; aber die allgemeine Biologie dieser Santalacee ist stark vernachlässigt worden, ebenso die Anatomie und Physiologie der Saugwurzeln, die verschiedenen Einflüsse, welche der Parasit auf den Wirt ausübt, u. s. w.

Der Verf. behandelt alle diese Punkte nacheinander. A. Allgemeine Biologie: *Osyris alba* besitzt eine besondere Vorliebe weder für ein bestimmtes Terrain, noch auch für einen besonderen Wirt. Sie befällt jedoch mit Vorliebe die Leguminosen mit Nodositäten und die Pflanzen mit Mykorrhizen ebenso die Gewächse, die auf an Humus reichem Boden

stehen. B. Entwicklung und Anatomie der Saugwurzeln. Die Saugwurzeln bilden sich zu jeder Jahreszeit und bis zu einer Tiefe von 20 cm im Boden. Sie stellen anfangs eine starke parenchymatöse Auftreibung, eine Vorstufe der Saugwurzeln von einfacher Struktur, dar, auf deren Gipfel sich ein für das Vordringen bestimmter Kegel differenziert. Wenn die Gewebe des Wirtes sehr schwer zu durchbrechen sind (Rhizom von *Carex*), so besteht die Saugwurzel aus mehreren übereinander befindlichen Auftreibungen. Ob die Saugwurzel einfach oder zusammengesetzt ist, die allgemeine Anatomie ist dieselbe. C. Physiologie der Saugwurzeln. Stärke findet sich in Menge in den Saugwurzeln, und fehlt in der angegriffenen Zone der Wurzel. Zucker entsteht in dem befallenen Organ durch diastatische Umwandlung der Stärke und wird zum Teil durch den Parasiten absorbiert, zum Teil lokalisiert. Die Saugwurzeln enthalten wechselnde Quantitäten von Fetten und Diastasen, die gut lokalisiert sind: Amylase, Cellulase und ein Gummiferment. D. Die Wirkung des Parasiten auf den Wirt: Diese Wirkung gibt sich zu erkennen durch die Entstehung von Narbengewebe, durch eine viel größere Tätigkeit in dem Bastholzteil und durch die Bildung von Thyllen oder von Schleim. E. Vernarbung der Wunden. Auf den Untergang der Saugwurzel folgt eine Vernarbung der von dem eindringenden Kegel verursachten Wunde. Dieselbe veranlaßt die Bildung von dickem Kork und einer verholzten Zone der getüpfelten Zellen. Houard (Paris).

**Guillon, J. M. et Perrier de la Bathie, L.,** Les criquets dans les Charentes. (Rev. viticult. Année IX. T. XVII. 1902. p. 653—659; T. XVIII. p. 61—64; Année X. T. XIX. 1903. p. 40—46, 153—156, 241—246. 1 pl. 22 fig.)

Die Heuschreckeninvasion, von der im Jahre 1901 verschiedene Gegenden des Südens und Südwestens von Frankreich gelitten haben, hat sich auch in den beiden Départements Charentes geltend gemacht. Es handelte sich dabei um die Art *Caloptenus italicus*. Nach A. Giard lassen sich die Invasionsjahre von Heuschrecken oder anderen Insekten im allgemeinen voraussehen. Schon A. H. Swinton hat darauf hingewiesen, und A. Giard hat dieses weiter verfolgt, daß Jahre mit außerordentlicher Vermehrung einer Art zusammenfallen mit den Jahren des Minimums von Sonnenflecken und dieselbe Periodizität zeigen. Das letzte Minimum der Sonnenflecken war im Jahre 1900. — Verff. haben Gelegenheit gehabt, sich in den genannten Gegenden mit den verschiedenen biologischen und praktischen Fragen, welche die Art betreffen, zu beschäftigen und legen in einer Reihe von Artikeln ihre Beobachtungen nieder.

Die ersten Begattungen fanden im Jahre 1901 ungefähr am 28. Juli statt und nahmen ihren Fortgang im August. Man konnte glauben, daß man da am meisten Eier finden müßte, wo die Heuschrecken den meisten Schaden verursachten. Dem war aber nicht so. Der Norden des Arrondissements Cognac, sowie die Nachbargegend hatte im Jahre 1901 eine starke Invasion. Man fand die Tiere besonders in den trockenen, kalkigen, steinigen Gegenden. In den Luzernefeldern bemerkte man häufig tote Exemplare, welche wahrscheinlich an *Entomophthora grylli* Fresenius zu Grunde gegangen waren. Eier wurden nun aber trotz eifrigen Suchens in jener Gegend nicht gefunden. Man hatte im Juli, zur Zeit der Begattung, die Heuschrecken nach Südwesten ziehen sehen, wo sie von der 15—18 km breiten Gironde auf-

gehalten wurden und zum Teil ihren Tod fanden. Die Legeplätze wurden nun hauptsächlich vor dieser Barriere im Arrondissement Saintes aufgefunden. Ohne das Hindernis, welches ihnen die Flußmündung und der Ozean entgegenstellte, würden sie wohl, indem sie die temporären Aufenthaltsorte verließen, sich den Gegenden ihrer permanenten Wohnsitze genähert haben. Die Eier fanden sich immer in trockenen Ebenen und an Hügeln, welche vor den Nord- und Westwinden geschützt waren. Und hier in den Brach- und Stoppelfeldern, den unbearbeiteten Weinbergen, den Luzernefeldern mit kalkigem oder kalkig lehmigem Boden. Sie fanden sich auf wohlbegrenzten Plätzen von 2—3 Ar bis 1 ha und mehr Oberfläche. Die klebrige Masse, mit der das legende Weibchen die Eier umgibt, verklebt die Eier untereinander und schafft um sie eine Art Erdkokon. Das Legen zieht sich von Ende Juli bis August hin und jedes Weibchen bringt über 200 Eier in den Boden. Jene Kokons liegen in schräger Richtung und befinden sich 1—3 cm unter der Oberfläche. Jeder Kokon schließt 30—45 Eier ein. Das Einsammeln der Eier ist deswegen nicht praktisch, weil es viel Arbeit verursacht und daher kostspielig ist. Es ist vorteilhafter, den Acker in bestimmter Weise zu bearbeiten, und zwar ihn anfangs Oktober und im April zu eggen, infolgedessen die Kokons auseinanderfallen und an die Oberfläche geraten. Dabei sollte man Hühner in das Feld lassen, welche die Eier begierig fressen. Verff. haben in der Station Viticole in Cognac Versuche über die Widerstandsfähigkeit der Eier Versuche angestellt. Isolierte Eier, welche während eines Monats im Wärmeschrank bei 35° erhalten wurden, kamen alle aus. Das Gleiche war der Fall bei denen, die 5 Wochen im Zimmer auf einer Glasplatte lagen. Dagegen kamen die Eier nicht aus, als sie in Erde gelegt wurden und man diese häufig begoß. Die die Eikokons einschließenden Erdklümpchen wurden in die Sonne gelegt und die Eier gingen zu Grunde. Die Eier besitzen im allgemeinen eine sehr große Widerstandsfähigkeit. Das Auskommen der Brut, das Ende Mai und im Juni stattfindet, wird durch Wärme und geschützte Lage beschleunigt. 56 Tage nach der Geburt ist die junge Heuschrecke zum vollen Insekt ausgewachsen. Regenwetter verlangsamt die Entwicklung. Die jungen Larven fressen im Freien die zarten Kräuter und bevorzugen die Leguminosen und die Disteln, von denen sie nur das Parenchym der Blätter fressen. Nach dem Auskommen bleiben sie, wo sie geboren sind, mehrere Tage in Gruppen an freien Stellen, um sich der Wärme und dem Licht auszusetzen. Nach Sonnenaufgang und vor Sonnenuntergang kriechen sie auf die Spitze der Blätter oder der Erdklumpen. Auch im Zimmer wenden sie sich konstant gegen die natürliche oder künstliche Lichtquelle. Bei Sonnenuntergang suchen sie irgendwo Schutz: im Grase oder unter toten Blättern, in den Hecken, dem Gebüsch, dem Heu u. s. w. Wenn des Morgens der Boden getrocknet ist, suchen sie, zu Gesellschaften vereint, ihre Nahrung auf dem Rasen, in Luzernefeldern, in den Kartoffelfeldern, in den Gemüsegärten. Bei Regenwetter und starken Westwinden verstecken sich die jungen Insekten, und dieses ist dann der Augenblick, in dem man sie durch Spritzen vernichten kann. Nach der zweiten Häutung bewegen sich die Tiere in Kolonnen von 1,50—2 m Breite und ziehen mit Vorliebe auf die sonnigen, nackten Stellen. Die Hindernisse überschreiten sie, selbst Häuser von mehreren Stockwerken. Man deckt daher die Brunnen zu, damit die Leichen das Wasser nicht verderben. In den

Charentes nahmen die Heuschrecken im allgemeinen die Richtung von Nordost nach Südwest. Als sie aber von der Gironde in ihrem Vormarsch aufgehalten wurden, wandten sie sich wieder direkt von Südwest nach Nordost zurück. Wenn die Heuschrecken erwachsen sind, fliegen sie leicht und am meisten gegen Mittag. Sie verlassen eine abgefressene Gegend, um neue Weideplätze aufzusuchen. Im Jahre 1901 sah man eine Kolonne von 100 km Breite fliegen (von Rochefort bis Barbezieux). Sie flogen nicht in kompakten Massen, sondern schwebten wie Schneeflocken in der Luft. Die Heuschrecken lieben besonders die Leguminosen der Wiesen, ebenso die verschiedenen Gemüsepflanzen. Vom Weizen hatten sie wohl wegen der vorgeschrittenen Entwicklung desselben nicht gefressen; ebensowenig von Mais und Tomaten. Die Baumschalen aber litten sehr; selbst die Weinpflanzungen, in denen sie mit den jüngsten Blättern anfangen. Kupferbrühe auf den Blättern hielt sie nicht ab, die letzteren zu fressen. Sind die Heuschrecken in großer Menge beisammen, so werden auch die Trauben beschädigt. In solchen Fällen schonen sie auch die Blätter, die Früchte, die Rinde der Obstbäume, sogar die Tapeten und Vorhänge in den Häusern nicht. Während eines warmen, feuchten Frühjahrs können die Pilzkrankheiten (*Entomophthora grylli*) der Insekten sich so sehr ausdehnen, daß in wenigen Tagen die stärksten Invasionen aufhören. Von parasitischen Insekten leben die Larven von einigen Fliegen in den Eikokons. Lerchen und Stare bleiben im Winter auf den Legeplätzen, um sich dort von den Eiern der Heuschrecken zu nähren. Im Frühjahr verzehren besonders die Sperlinge die Larven. Desgleichen werden die Heuschrecken gern von den Hühnern gefressen, die man auf die Felder bringt (Poulaillers roulants). Bei den Vernichtungsarbeiten verwendet man besonders Frauen und Kinder, die unter einem Anführer stehen. Sie sind mit Zweigen bewaffnet und gehen gegen einen freien, ebenen Ort vor. Wenn die Tiere erlahmen, werden sie durch Schläge, Zertreten u. s. w. vernichtet. Sie halten um so länger aus, je wärmer der Tag ist, je mehr die Sonne scheint und je älter die Insekten sind. Insektiziden kann man gegen die Larven anwenden; sie schaden aber der Vegetation. Von Kunckel d'Herculais ist folgende Formel als praktisch empfohlen: Steinkohlenteeröl 5 kg, weiche, schwarze Seife 1 kg, weiches Wasser 94 l, wozu man noch mit Vorteil 500 g kristallisierte Soda hinzufügen kann. Diese Emulsion wird mit einer Spritze ausgebreitet. Ein ferneres Bekämpfungsmittel besteht darin, daß man mit dem Pfluge im Abstände von 20 m eine Reihe von Furchen zieht und an den beiden Enden der Furchen Gruben anlegt. Man treibt die Heuschrecken gegen das Furchensystem. Sie folgen den Furchen und fallen in die Gruben, wo man sie verschüttet. Ferner werden künstliche Barrieren („Melhafa“) aus möglichst weißer Leinwand empfohlen. Lange Leinwandstreifen werden an Pfähle gespannt und die Hälfte der Breite des Streifens wird lose von dieser Leinwandmauer auf dem Boden ausgebreitet liegt. Eine lange Linie von Treibern jagt die jungen Insekten gegen die Leinwand und, wenn sie dort angelangt sind, wird der freie, auf dem Boden liegende Rand des Streifens mit dem gespannten zusammen genommen. Die Heuschrecken kommen so zwischen zwei Lagen Leinwand zu liegen und können vernichtet werden. In einem Orte des Arrondissement Saintes war diese Art von Jagd infolge eines Erlasses des Präfekten so gut geordnet, daß man 900 hl Heuschrecken erbeutete.

J. Dewitz (Geisenheim).

**Mayet, Valéry**, Les cicadelles nuisibles à la vigne. (Rev. viticulture. Année XI. T. XXI. 1904. p. 573—578. 1 pl. 5 fig.)

Die Cicadelliden (Cicadellidae, Hemiptera Homoptera) sind polyphag und finden sich auch auf der Rebe. Nur in besonderen Fällen werden sie dieser gefährlich. Schon Audouin (1842) und Valéry Mayet (1890) haben für dieses Gewächs schädliche Arten aufgeführt, ebenso amerikanische Autoren (Riley, 1888). In neuester Zeit sind dann durch diese Tiergruppe verursachte Schäden durch Viala aus Südfrankreich gemeldet. Diese Vorkommnisse veranlassen den Autor, diejenigen Cicadelliden kurz zusammenzufassen, welche auf der Rebe beobachtet wurden. Es sind dieses:

- 1) *Penthimia atra* Fabricius,
- 2) *Typhlocyba* (*Chlorita*) *flavescens* Fabricius,
- 3)       "       (*Eupteryx*) *viticola* Targioni,
- 4)       "       (*Zygina*) *alneti* Dahlberg,
- 5)       "       (       "       ) *rhamni* Ferrari.

*P. atra*. Diese von Audouin für das Mâconnais aufgeführte Art lebt in Languedoc meist auf Eichen und ist selten ampelophag. Im Departement Vaucluse kommt sie häufig und zahlreich auf dem Weinstock vor. Dieses Departement scheint ein Mittelpunkt für ihre Verbreitung darzustellen. Gleichfalls als ampelophag wurde sie erhalten von Lyon, Condrieu (Rhône), Valence, Lunel, Claret (Hérault), Narbonne, Banyuls. — *T. flavescens*. Dieses Insekt findet sich am häufigsten von den erwähnten Arten auf der Rebe und ist gleichzeitig die am meisten polyphage Form. Man kann von ihr auf der Rebe alle Entwicklungsstadien beobachten. Das geschlechtsreife Insekt erscheint Ende Juni und ist im Juli, August, September, Oktober am häufigsten. Das Verbreitungsgebiet der Art scheint weit zu sein, nämlich das gemäßigte Europa und Nordafrika. Im südlichen Frankreich ist sie überall; die Vermehrung ist aber besonders stark in den etwas salzigen Gebieten der Mittelmeerküste. Aus Algier hat sie der Autor von Sétif und Blidah erhalten und er hat sie bei Bône und Oran beobachtet. In Tunis kann sie größeren Schaden anrichten. — *T. viticola*. Bisher nur in Italien, auf den Inseln Elba und Pianoza, beobachtet und hier ausschließlich auf der Rebe. — *T. alneti* wird als auf *Alnus* lebend angegeben; ist aber auch auf dem Weinstock beobachtet worden, so bei Mont-de-Marsan (Landes). Wenigstens scheint es sich um diese Art zu handeln. — *T. rhamni*. Diese erst 1882 von Ferrari aufgestellte Art wird in Südfrankreich nach *T. flavescens* am häufigsten auf dem Weinstock gefunden; so bei Arles, Aiguemortes, Montpellier. Sie geht auch auf die Hügel.

Im allgemeinen sind diese Rebenparasiten wenig zahlreich und von geringer Bedeutung. Sie können sich aber dennoch stark vermehren und dann merklichen Schaden anrichten, wie dieses vom Verf. in den Weinbergen der unteren Rhône festgestellt wurde. Im eigentlichen Frankreich zeigen sich im ganzen ernstere Schäden nur in den etwas salzigen Niederungen.

Auf den Blättern erzeugen diese Insekten kleine, unregelmäßige, weiße Flecken, welche zusammenfließen können und das vollkommene Vertrocknen des Blattes bewirken. Solche Fälle kommen im kontinentalen Frankreich selten vor; sie sind aber vom Verf. beobachtet worden in Algier und ebenso in Tunis (Enfida), in welchem letzterem Lande sie zu einer Kalamität geworden sind.

J. Dewitz (Geisenheim).

6\*

## Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Cao, G.**, Il metodo sierodiagnostico e il riconoscimento dell'amido del frumento, dell'orzo edella segale. (Annali di Igiene sperimentale. (2). Vol. XIV. 1904. p. 83—102.)

Um die Ausbildung von spezifisch wirkenden Diastasen bei Darbietung verschiedener Stärkesorten zu verfolgen, wurde die Stärke in 2-proz. Karbolsäure sterilisiert, dann mit Wasser gut gewaschen und als wässrige Suspension zugereicht. Behandelt man einen Hund längere Zeit mit subkutaner Injektion von Weizen-, resp. Gersten- oder Roggenstärke, so gewinnt sein Blutserum starke spezifische, amyloagglutinierende und amylolytische Eigenschaften. Dieses Vermögen scheint für Weizen- und Roggenstärke kräftiger zu sein als für Gerstenstärke. Immerhin dehnt sich die amylolytische Wirkung für die eine Stärkesorte teilweise auch auf die beiden anderen aus. Es genügen 6 Wochen, um das Maximum der Wirksamkeit zu erreichen.

Im Glase aufbewahrt, wird das Serum nach 15—20 Tagen trübe und büßt langsam seine Wirksamkeit ein, welche aber zum Teil bis 2 Monate erhalten bleibt.

Im nur 20 Tage lang behandelten Tier war 22 Tage nach der letzten Injektion die fragliche Eigenschaft bereits verschwunden. Behandelt man das Tier längere Zeit, so verliert sich auch bedeutend langsamer die amylolytische Wirksamkeit.

Praktisch kann der sierodiagnostischen Methode keine Bedeutung zukommen, denn es ist unmöglich, weder mit Jod noch mit der spezifischen Serumwirkung gemischte Stärkesorten zu erkennen.

Pantanelli (Rom).

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Sula, Jar.**, Welchen Veränderungen unterliegt pasteurisiertes Bier? (Oesterreichische Brauer- und Hopfenzeitung. 1905. No. 4.)

Verf. bespricht die Veränderungen, denen pasteurisiertes Bier in Bezug auf Geschmack, Trübung durch ausgeschiedene Bestandteile (Eiweißkörper) und Farbe unterworfen ist und erteilt Ratschläge, diesen Uebelständen zu begegnen.

Kausch (Charlottenburg).

**Ewert**, Auftreten und Bekämpfung von *Gloeosporium Ribis* (Lib.). (Naturwissensch. Ztschr. f. Land- und Forstwirtsch. Jahrg. III. 1905. p. 200—204.)

In den Johannisbeerpflanzungen des Kgl. Pomolog. Institutes zu Proskau tritt seit vielen Jahren *Gloeosporium* dadurch schädigend auf, daß bald nach der Laubentwicklung die Oberseite der Blätter mit vielen punktförmigen Pykniden übersät und vorzeitiger Blattabfall herbeigeführt wird. Nicht selten geht der Pilz auch auf die Beeren über und erzeugt dann auf ihnen kleine Wärzchen. In kräftigem Wachstum befindliche Organe werden weniger leicht befallen; ebenso sind robuster wachsende Johannisbeersorten, z. B. die echte „Rote Holländische“ gegen *Gloeosporium* fast ganz immun. Wärme hemmt die Ausbreitung der Krankheit. Aus den vom Verf. angestellten Bekämpfungsversuchen geht hervor, daß Behandlung der Sträucher mit gewöhnlicher 1-proz. Bordeauxbrühe ohne jeden Zusatz, Auswahl unempfindlicher Sorten und

Herbeiführung kräftigen Wachstums der Sträucher durch gute Bodenbearbeitung und Düngung bezw. Erzeugung kräftiger Triebe durch Rückschnitt die Gloeosporium-Krankheit einzuschränken vermögen.  
Beck (Tharandt).

**Henry, François,** Préparation des bouillies arsenicales pour combattre les altises. (Rev. viticulture Année X. T. XIX. 1903. p. 655—657.)

Die *Haltica ampelophaga* ist für die Weinberge in Algier eine wahre Plage. Von den angewendeten Mitteln scheint nur Arsenik ein greifbares Resultat zu haben. Natürlich ist mit der Behandlung aufzuhören, sobald sich die Trauben bilden. Aber alle bisherigen Formeln waren nur von ungefähr zusammengestellt. Der Verf., welcher davon ausgeht, gleichzeitig die Pilzkrankheiten zu bekämpfen, empfiehlt folgende Zusammensetzung. Man wendet die gewöhnliche Menge von Kupfersulfat und Soda an und fügt die arsenige Säure, gewöhnlich 100 g auf 1 hl, hinzu. Dadurch erhält man eine neutrale Flüssigkeit. In einem Hektoliter sind demnach enthalten 2 kg Kupfersulfat, 100 g arsenige Säure, 930 g Soda von 90 Proz. Gehalt. Bei der Herstellung der Flüssigkeit verfährt man in folgender Weise. Will man z. B. 10 hl herstellen, so löst man 1 kg arsenige Säure in etwa 10 l kochendem Wasser unter Hinzufügung von 1 kg Soda. Man erwärmt bis zur vollständigen Lösung. Man gießt die Lösung in eine Lösung von Kupfersulfat, die 20 kg von diesem Salz enthält. Man rührt um und fügt 8 kg 300 g Soda hinzu und gießt schließlich so viel Wasser nach, daß 10 hl entstehen. Die gebildete Verbindung von Kupfer und arseniger Säure ist sehr gelatinös und haftet gut. Damit die Flüssigkeit nicht zu alkalisch wird, muß man den Gehalt der Soda kennen. Wenn eine Soda 95 Proz. Gehalt hat, so braucht man nur 880 g für 2 kg Kupfersulfat an statt 930 g zu nehmen. Auf der anderen Seite, wenn der Gehalt des Kupfersulfates nicht wie gewöhnlich 98, sondern nur 96 ist, so muß man auf 2 kg dieses Sulfates 908 g Soda von 90 Proz. Gehalt oder 832 g von 95 Proz. Gehalt verwenden. Die Soda kann man auch durch Kalk ersetzen. 1 kg Soda entspricht ungefähr 0,530 kg reinen gelöschten Kalk. Man erhält dann die folgende Formel: 2 kg Kupfersulfat, 100 g arsenige Säure, 100 g Soda zur Auflösung der arsenigen Säure, 440 g ungelöschter Kalk. Die auf das geratewohl hergestellten Formeln enthalten sehr viel mehr Kalk. Man kann aber die Menge des Kalkes auf 450—460 g erhöhen wegen der Unreinheit, die er enthält. Eine zu große Menge von Kalk verunreinigt die Apparate. Bei diesen Formeln haben 2 kg Kupfersulfat als Ausgangspunkt gedient; für größere Mengen dieses Salzes lassen sich die Werte leicht berechnen. (Die *Haltica ampelophaga* ist auch in dem kontinentalen Frankreich vorhanden und hier seit einigen Jahren in Zunahme begriffen. So findet sie sich in dem Tale des Gier bei Saint-Etienne. Ungefähr von 1898—1899 hat sie angefangen sich auf dem Grenzgebiet des Dép. der Rhône und des Dép. der Loire zu entwickeln und jetzt ist die ganze Landschaft von einer Invasion befallen, die zu einer wahren Kalamität geworden ist. J. D.)

J. Dewitz (Geisenheim).

**Couanon, G.,** Traitement d'hiver contre la Pyrale et la *Cochylis* en Champagne. (Rev. viticulture. Année XI. T. XXI. 1904. p. 215—218. 4 fig.)

Verf. berichtet über die Vernichtung der jungen Larven des Springwurmes (*Tortrix pilleriana*) und der Puppen des Sauerwurmes (*Cochylis ambiguella*), welche beide den Winter in den Rebfählen zubringen, im Département der Marne. In der Champagne ist es Sitte, die Reben nach dem Schnitt im März—April so weit einzugraben, daß nur das Holz des letzten Jahres herausragt. Infolge dieser Behandlung verbergen sich die überwinternden kleinen Springwürmer und die Puppen der *Cochylis* zum größten Teil in den Spalten der Rebfähle. Man riet schon seit lange, die Anwendung von heißem Wasser (*échaudage*, *ébouillantage*) und die Schwefelung unter Glocken (*clochage*), welche man gemeinhin für die Rebstöcke selbst verwendet, auch für die Desinfektion der Rebfähle zu benutzen. Schon 1889 setzte ein Erlaß des Präfekten die erstere, die heiße Behandlung der Fähle, fest. In jedem Jahre wurden nun diese in große Rezipienten gebracht, welche fahrbare Dampfapparate mit Dampf versehen. Die Fähle verweilten hier 20 Minuten bei über 100°. Der Nachteil des Verfahrens bestand darin, daß man Wasser auf die mit Reben bepflanzten Abhänge schaffen, und daß man die Rebfähle hin- und hertragen mußte, da man mit den Maschinen nur auf breiten Wegen fahren konnte. Infolgedessen betragen die Kosten für den Hektar 250 frcs., ohne daß man dabei die Anschaffungskosten in Rechnung bringt. Aus diesen Gründen hat man zum Schwefelungsprozeß gegriffen. Die Fähle werden auf Haufen zusammengelegt, die Haufen werden mit einem Kasten aus galvanisiertem Eisenblech von 1.50×0.90×1.35 m Ausdehnung bedeckt und unter dem Kasten werden 550—600 g Schwefel in Form der zum Schwefeln der Weinfässer benutzten Schwefelbänder verbrannt. Man braucht 320—325 solcher Bänder zu 20 Centimes für 1 ha. Die Einwirkung dauert 40 Minuten. An einem Tage beschicken 5 Männer mit 8 Kasten 28 a. Es kommt der Hektar auf 100 frcs., während bei Anwendung von Dampf der Hektar 250 frcs. kostet. Von der Wirkung der Schwefelung kann man sich durch Aufheben der geschwefelten und nicht geschwefelten Rebfähle überzeugen, wobei nur die letzteren später Insekten ergeben. (Die Vernichtung der Insekten in den Spalten der Rebfähle ist auch für andere Gegenden von großer Wichtigkeit, in denen das Kulturverfahren der Reben ein anderes ist als in der Champagne. J. D.)

J. Dewitz (Geisenheim).

**Raebiger, H.**, Ueber Versuche zur Vertilgung der Ratten durch Bakterien. (Landwirtschaftl. Wochenschr. für die Provinz Sachsen. 1905. p. 142.)

Versuche mit dem Loefflerschen Mäusetyphusbacillus und dem Bacillus Virus Danysz haben zu dem Resultat geführt, daß diese Bakterienpräparate für die Praxis als wertlos bezeichnet werden mußten. Im Jahre 1903 hat Neumann in Dänemark einen rattentötenden Bacillus entdeckt, der von einer Gesellschaft unter wissenschaftlicher Kontrolle unter dem Namen „Ratin“ in den Handel gebracht wird. Mit diesem bacillenhaltigen Material wurden den natürlichen Verhältnissen möglichst angepaßte Fütterungsversuche an weißen Mäusen, grauen Hausmäusen, Brandmäusen und grauen Ratten angestellt, indem mit den erhaltenen unverdünnten Kulturen trockene Weißbrotwürfel getränkt und lose in Papier eingehüllt den Versuchstieren vorgelegt wurden. Weiße Mäuse zeigten die geringste Widerstandsfähigkeit, da sie innerhalb 6 Tagen verendeten; Hausmäuse starben nach 6—9 Tagen, während der größte Teil der Ratten



in der Zeit vom 6.—13. Tag nach der Fütterungsinfektion einging, ein geringer Prozentsatz jedoch am Leben blieb. Die Brandmäuse, die sich auch gegen Mäusetyphusbacillen unempfindlich zeigen, sind selbst nach wiederholter Fütterung mit infiziertem Brot völlig gesung geblieben. Die Ratinbacillen konnten im Blute, in der Leber und in der Milz der verendeten Versuchstiere gefunden werden. In letzter Zeit wird „Ratin“ auch in festen Nährböden gezüchtet und scheint in dieser Form eine noch promptere Wirkung auf Ratten zu entfalten, so daß es als das zuverlässigste gebräuchliche Präparat anzusprechen ist. Stift (Wien).

**Dewitz, J.**, Ueber Fangversuche, angestellt mittelst Acetylenlampen an den Schmetterlingen von *Tortrix pilleriana*. (Zeitschr. wiss. Insektenbiologie. Bd. 1 (10). 1905. p. 106—116.)

In dem seit den Zeiten Audouins als klassisches Land des Springwurmes (*T. pilleriana*) bekannten Beaujolais haben in Villefranche (Rhône) G. Gastine und V. Vermorel in den Jahren 1901 und 1902 mit der Acetylenlampe „Méduse“ Fangversuche an jener ampelophagen Schmetterlingsart angestellt. Sie haben dabei, besonders in den Versuchen des Jahres 1901 (vom 13/14. bis 30/31. Juli) nach den Feststellungen des Verf. die Prozentzahlen der gefangenen Männchen und Weibchen angegeben. Im Jahre 1903 ließ V. Vermorel nochmals und unter denselben Verhältnissen die Schmetterlingsart fangen und die Versuche dauerten vom 25/26. Juli bis zum 5/6. September und wurden mit 20 Lampen ausgeführt. An dem vom Verf. konservierten Material wurde von ihm die Anzahl der Männchen und Weibchen festgestellt, wobei sämtliche 32,474 gefangenen Schmetterlinge einer Untersuchung unterzogen werden. Bei derselben handelte es sich jedoch nicht allein um das Geschlecht, sondern es wurden für die Weibchen auch noch zwei verschiedene Kategorien aufgestellt. Man unterschied zwischen mit Eiern erfüllten Weibchen (I) und solchen Weibchen, die nur noch sehr wenige Eier enthielten oder schon abgelegt hatten (II). Die Weibchen I wurden dann wieder in solche eingeteilt, welche in höchstem oder in starkem Grade mit Eiern erfüllt waren (Ia) und in solche, bei denen dieses in weniger starkem Maße, aber noch in befriedigender Weise der Fall war (Ib). Hinsichtlich der praktischen Bedeutung kommen fast allein die Weibchen I (Ia und Ib) in Betracht. Die Resultate der Untersuchung sind in den verschiedenen Rubriken einer beigegebenen Tabelle untergebracht unter Aufführung der absoluten Zahlen, sowie der Prozentzahlen.

Die Zahl der in den verschiedenen Nächten gefangenen Schmetterlinge ist, dem Aufhören der Invasion entsprechend, sehr gering, besonders wenn man sie mit den in den Jahren 1901 und 1902 erhaltenen Fangergebnissen vergleicht. Im Jahre 1903 wurden stärkere Fänge erst viel später als in den Jahren 1901 und 1902 beobachtet. Dieses späte Auskommen größerer Mengen von Schmetterlingen kann auf atmosphärische Verhältnisse und auf die späte Entwicklung der Rebe zurückgeführt werden. Man kann aber auch daran denken, daß ungünstige atmosphärische Einflüsse zuerst auf die Säftezusammensetzung der Wirtspflanze und diese auf die Konstitution des Insekts wirken.

Die Zahlen der gefangenen Schmetterlinge in den aufeinanderfolgenden Nächten lassen eine gewisse Periodizität erkennen. Das Charakteristische dieser Perioden liegt darin, daß der Wert des letzten Gliedes einer Periode unter, oft sehr bedeutend, dem Werte des ersten Gliedes

der folgenden Periode liegt, und daß der Wert dieses ersten Gliedes sich etwas unter dem des zweiten befindet; z. B. . . . 49/343, 770 . . . , oder . . . 83/535, 1159 . . . . Aehnliche und was die Zahl ihrer Glieder angeht, recht regelmäßig Perioden lassen sich von den Zahlen aufstellen, welche J. Laborde für die gefangenen Schmetterlinge des Sauerwurmes (*Cochylis ambiguella*) mitteilte. Ebenso lassen sich an den von G. Lüstner für dieselbe Art publizierten Zahlen (1903) Perioden erkennen. Hinsichtlich der Prozentzahlen der Männchen und Weibchen geht mit dem angegebenen Niedergang in der Vermehrung der Art im Jahre 1903 ein starkes Ueberhandnehmen der Männchen Hand in Hand. Für die Gesamtzahl der gefangenen Schmetterlinge (32474 Stück) ist die Prozentzahl der Männchen 76,45 und die der Weibchen 23,54. Das Mittel aller Prozentzahlen der Männchen bzw. der Weibchen ist sogar 82,83 bzw. 17,15. G. Gastine und V. Vermorel geben als Mittel für die Prozentzahlen von 13/14. bis 26/27. Juli 1901 58 bzw. 42 an.

Erst in der zweiten Hälfte der Reihenfolge der Nächte (vom 17/18. August) nehmen die Prozentzahlen der Weibchen an Größe zu und die der Männchen ab. Obgleich die am Schlusse des Experiments erhaltenen Mengen von Schmetterlingen nicht größer sind als die am Anfang erhaltenen, so sind die Prozentzahlen der Weibchen verhältnismäßig hoch. Auch in der Reihenfolge der Prozentzahlen der gefangenen Weibchen läßt sich eine gewisse Periodizität erkennen. Jede Periode beginnt mit einer hohen Zahl, die in den folgenden Gliedern sinkt. Auch bei den von G. Gastine und V. Vermorel einerseits und von J. Laborde andererseits mitgeteilten Prozentzahlen der Weibchen kann man Perioden wahrnehmen. Bei den Prozentzahlen der Männchen findet dann naturgemäßerweise eine umgekehrte Periodizität statt: in jeder Periode steigen die Werte an. Trotzdem sinken für die Gesamtheit der Nächte die Prozentzahlen der Männchen allmählich, während die der Weibchen allmählich steigen. Die beiderseitigen Prozentzahlen nähern sich daher.

Am Anfange sind im allgemeinen die Prozentzahlen der Weibchen I größer als die der Weibchen II. Die Prozentzahlen sind auf sämtliche Weibchen, nicht auf sämtliche Schmetterlinge berechnet. Gegen den Schluß hin nehmen die Prozentzahlen der Weibchen I ab und die der Weibchen II zu; die ersteren bis 0, die letzteren bis 100. Verf. führt die Erscheinung darauf zurück, daß anfangs die Weibchen die Eier langsamer ablegen, länger im Leibe behalten als später, wo sich die Ablage schnell vollzieht. Die Temperatur hat darauf keinen Einfluß. Schließlich scheinen auch die Prozentzahlen der Weibchen I und II Perioden zu bilden.

J. Dewitz (Geisenheim).

## Neue Litteratur,

zusammengestellt von

**Prof. Dr. OTTO HAMANN,**

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

### Allgemeines.

- Bericht über die Tätigkeit der chemisch-physiologischen Versuchstation der böhmischen Sektion des Landeskulturrates für das Königreich Böhmen an der k. k. böhm. technischen Hochschule in Prag. (*Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VIII. 1905. Heft 4. p. 485—500.*)
- Bubák, Fr.**, Bericht über die Tätigkeit der Station für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz an der k. landw. Akademie in Tabor (Böhmen) im Jahre 1904. (*Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VIII. 1905. Heft 4. p. 513—516.*)
- Gander, Martin**, Die Bakterien. Einsiedeln (Benziger u. Co.) 1905. 169 p. 8°. (Benzigers naturw. Bibl. N. 4.) 1,50 M.
- Galli-Valerio**, Die Entdeckungen der Parasitologie und die Errungenschaften der Hygiene. (Therapeut. Monatshefte. Jg. XIX. 1905. Heft 6. p. 277—283.)
- Hirschberg, E.**, Ein Fortschritt auf dem Gebiete der Medizinalstatistik. (*Dtsche Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspfl. Bd. XXXVII. 1905. Heft 2. p. 363—383.*)
- Hotter, Ed.**, Bericht über die Tätigkeit der landwirtschaftlich-chemischen Landes-Versuchs- und Samenkontrollstation in Prag für das Jahr 1904. (*Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VIII. 1905. Heft 4. p. 363—372.*)
- Justs** botanischer Jahresbericht. Jg. XXXII. (1904.) Abt. I. Heft 1. Pilze . . . Moose . . . Leipzig (Bornträger) 1905. 720 p. 8°.
- Kollar, Anton J.**, Bericht über die Tätigkeit der landw.-chemischen Untersuchungs- und Samenkontrollstation der Ackerbau-, Obst- und Weinbauschule in Leitmeritz im Jahre 1904. (*Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VIII. 1905. Heft 4. p. 391—436.*)
- Marcuse, Julian**, Der 1. Allgemeine Deutsche Wohnungskongreß zu Frankfurt a./M., 16.—19. Oktober 1904. (*Dtsche. Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspflege. Bd. XXXVII. 1905. Heft 2. p. 418—421.*)
- Newman, G.**, Bacteriology and public health. 3. revised edition. Philadelphia 1905. 497 p. 8°. Mit Taf. 25 M.
- Preis, V.**, Bericht über die Tätigkeit der Versuchstation für Zuckerindustrie in Prag im Jahre 1904. (*Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VIII. 1905. Heft 4. p. 501—505.*)
- Schindler, J.**, Bericht über die Tätigkeit der fürstlich Schwarzenbergischen Versuchstation Lobositz 1904. (*Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VIII. 1905. Heft 4. p. 437—464.*)

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Asahi, K.**, Beitrag zur Untersuchung auf Hyphomyceten. (Prager med. Wchnschr. Jg. XXX. 1905. N. 12. p. 153—154. 1 Fig.)
- Giannia, G.**, Coloration des protozoaires. (*Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 5. p. 346—352.*)
- Mettler, E.**, Experimentelles über die bakterizide Wirkung des Lichtes auf mit Eosin, Erythrosin und Fluoreszein gefärbte Nährböden. (*Arch. f. Hyg. Bd. LIII. 1905. Heft 2. p. 79—127.*)
- Troester, C.**, Ueber Dunkelfeldbeleuchtung. (*Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 15/16. p. 511—512.*)

### Systematik, Morphologie.

- Baudisch, Fr.**, Ueber *Bostrichus curvidens* Germ. (*Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jg. XXXI. 1905. Heft 5. p. 211—213.*)
- Borini, A.**, I Protozoi parassiti dell' intestino umano in rapporto alla diagnostica clinica. Torino 1905. 8°. 1,80 M.
- Braun, M.**, Notiz zur Entwicklung der *Taenia tenuicollis* Rud. (*Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 1. p. 54—55.*)
- Bresadola, J.**, Hymenomycetes novi vel minus cogniti. (*Ann. Mycol. Vol. III. 1905. N. 2. p. 159—164.*)
- Busse, Walter**, Ueber das Auftreten epiphytischer Kryptogamen im Regenwaldgebiet von Kamerun. (*Ber. d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXIII. 1905. Heft 4. p. 164—172.*)

- Caullery, Maurice et Mesnil, Félix**, Phénomènes de sexualité dans le développement des actinomyxidiées. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 19. p. 889—891.)
- Caullery, M. et Mesnil, F.**, Phénomènes de sexualité dans le développement des Actinomyxidiées. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXL. 1905. N. 22. p. 1482—1484.)
- Cobb, N. A.**, Tapeworms of dog. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 4. p. 311—318. 14 Fig.)
- Das Weizenälchen.** (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXIII. 1905. Heft 24. p. 642—644. 2 Fig.)
- Die Milben im landwirtschaftlichen Betriebe.** (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXIII. 1905. Heft 24. p. 633—635.)
- Fron, G.**, Sur le conditions de developpement du mycelium de la morille. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 18. p. 1187—1189.)
- Froggatt, Walter W.**, Sheep infested with the larvae of the nasal fly (*Oestrus oris*) at Megalong. (Agricult. Gaz. of New South Gaz. Vol. XVI. 1905. P. 4. p. 342.)
- Gallaud, J.**, Études sur une entomorphothorée Saprophyte. (Ann. des Sc. nat. Sér. 9. Botanique. Année LXXXI. T. I. 1905. N. 2. p. 101—128. 1 Taf. u. 2 Fig.)
- Heymann, Georg**, Neue Distomen aus Chelonien. Diss. med. Königsberg. 1905. 8°.
- Hofer, Br.**, Ueber die Gasblasenkrankheit der Salmoniden. (Allg. Fischerei-Ztg. 1905. N. 10. p. 183—185. 2 Fig.)
- v. Höhnelt, Franz**, Mykologische Fragmente 76. Zur Synonymie einiger Pilze. (Ann. Mycol. Vol. III. 1905. N. 2. p. 187—190.)
- Houard, C.**, Recherches anatomiques sur les Diptéroécidiées des Genévriers. (Ann. des Sc. nat. Sér. 9. Botanique. Année LXXXI. T. I. 1905. N. 2. p. 67—100. 59 Fig.)
- James, S. P.**, On a parasite found in the white corpuscles of the blood of dogs. (Scientific mem. by officers of the med. a. san. depart. of the Government of India. N. Ser. 1905. N. 14. 1905. 12 p. 1 Taf.)
- Jones, Mabel**, A peculiar microorganism showing rosette formation. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 15/16. p. 459—463. 3 Fig.)
- Lampa, Sven**, Apelmärgstekeln (*Taxonus glabratus* Fall., *agilis* Klug.). (Entomol. Tidskr. Arg. XXVI. 1905. Häft 1/3. p. 63—64.)
- , *Trogosita mauritanica* L. (Entomol. Tidskr. Arg. XXVI. 1905. Häft 1/3. p. 57—59.)
- Laveran, A.**, Pseudo-hématozoaires endoglobulaires. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 19. p. 1211—1216. 4 Fig.)
- Leichtenstern, Otto**, Studien über *Strongyloides stercoralis* (Bavay) (*Anguillula intestinalis* und *stercoralis*), nebst Bemerkungen über *Ancylostomum duodenale*. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXII. 1905. p. 309—350. 4 Fig.)
- Lewis, Joseph and Williams, Herbert, U.**, The results of attempt to cultivate trypanosomes from frogs. (American med. T. IX. 1905. p. 491.)
- Mac Dougall, B. Stewart**, The turnip mud beetle (*Helophorus rugosus*). (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 21. p. 102—104. 3 Fig.)
- , The goat moth and the wood Leopard moth (*Cossus ligniperda*). (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 2. p. 115—118.)
- Magnus, P.**, *Sclerotinia Crataegi*. (Ber. d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXIII. 1905. Heft 4. p. 197—202.)
- Maire, René**, Recherches cytologiques sur quelques Ascomycètes. (Ann. Mycol. Vol. III. 1905. N. 2. p. 123—154.)
- Maire, R.**, La mitose hétérotypique et la signification des protochromosomes chez les basidiomycètes. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 15. p. 726—728.)
- Marais de Beauchamp, P.**, Etudes sur les Cestodes des Sélaciens. (Thèse de Paris 1905.)
- Massalongo, C.**, Di un nuovo micococcidio dell' *Amarantus sylvestris* Desf. (Bull. d. soc. bot. Ital. 1905. N. 7/8. p. 354—356.)
- Moorhead, T. Gillmann**, The bacillus coli communis as a cause of septicaemia. (Practitioner. Vol. LXXIV. 1905. N. 6. p. 770—784.)
- Novy, F. G. et Mac Neal, W. J.**, On the trypanosomes of birds Journ. of inf. dis. T. II. 1905. p. 256—308. 11 Taf.)
- Pfeiffer, Ernst**, Ueber trypanosomenähnliche Flagellaten im Darm von *Melaphagus ovinus*. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. L. 1905. Heft 2. p. 324—330. 1 Taf.)
- Prowasek, S.**, Studien über Säugetiertrypanosomen. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXII. 1905. p. 351—395. 6 Taf. u. 4 Fig.)
- Ransom, B. H.**, The gid parasite (*Coenurus cerebralis*): its presence in American sheep. (U. S. Depart. of Agric. Bureau of animal industry Bull. 1905 N. 66. 23 p. 12 Fig.)
- , A new Nematode (*Gongylonema ingluvicola*) parasitic in the crop of chickens. (U. S. Depart. of Agric. Bureau of animal industry. Circular N. 64. 3 p. 2 Fig.)
- , Manson's Eye Worm of Chickens (*Oxyspirura Mansoni*), with a general review of nematodes parasitic in the eyes of birds and notes on the spiny-suckered Tapeworms of Chickens

- (*Davainea echinobothrida* (= *Taenia botrioplites*) and *D. tetragona*). (U. S. Depart. of Agric. Bureau of animal industry. Bull. N. 60. 1904. 72 p. 51 Fig.)
- Répin, Ch.**, La culture de la morille. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 19. p. 1274—1275.)
- Roger, J. et Greffulhe**, Sur une trypanosomiase observée en Algérie. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 18. p. 826—827.)
- Ross, Ronald**, An Address on the logical basis of the sanitary policy of mosquito reduction. (British med. Journ. 1905. N. 2315. p. 1025—1029.)
- Saccardo, P. A.**, Notae mycologicae. (Ann. Mycol. Vol. III. 1905. N. 2. p. 165—171.)
- Salmon, Ernest, S.**, On specialisation of parasitism in the Erysiphaceae, 3. (Ann. Mycol. Vol. III. 1905. N. 2. p. 172—186.)
- Sander, L.**, Die Tsetsen (Glossinae Wiedemann). (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. IX. 1905. Heft 6. p. 254—275. 1 Fig.)
- Schikora, F.**, Die Krebspest in der Neumark. (Fischerei-Ztg. Neudamm. Bd. VIII. 1905. N. 21. p. 329—331.)
- Stäubli, C.**, Beitrag zur Kenntnis der Verbreitungsart der Trichinenembryonen. (Vierteljahrsschr. d. Naturf. Ges. in Zürich. Jg. L. 1905. Heft 1/2. p. 163—176.)
- Stevenson, Earle C.**, A new parasite (*Strongylus quadricolatus* n. sp.) found in the pigeon. (Prelim. rep.) (U. S. Depart. of Agric. Bureau of animal industry. Circular N. 47. 6 p. 10 Fig.)
- The horse bot fly (*Gastrophilus equi*). (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 2. p. 108—111. 2 Fig.)
- Thiroux**, Sur un nouveau trypanosome de la souris domestique (*Mus musculus*). (Compt. rend. Soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 19. p. 885—887. 1 Fig.)
- Vincent, H.**, Sur la morphologie du bacille fusiforme. Réponse à M. Plaut. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 17. p. 806—807.)
- Vuillemin, Paul**, Le *Spinellus macrocarpus* et ses relations probables avec le *Spinellus chalybeus*. (Ann. Mycol. Vol. III. 1905. N. 2. p. 155—159. 2 Fig.)

#### Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

- Cazottes, Y.**, Etude sur la coloration et la décoloration des bacilles acido-résistants. Lyon 1904. 8°. 68 p.
- Charrin et Le Play**, Action pathogène du *Stearophora radiculicola* sur les animaux. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXL. 1905. N. 22. p. 1480—1482.)
- Corsini, Andrea**, Su i così detti „granuli di zolfo“ che si riscontrano nella famiglia „Beggiatoaceae“. (Lo Sperimentale = Arch. di biol. norm. e patol. Anno LIX. 1905. Fasc. 2. p. 149—172. 1 Taf.)
- Delacroix, Georges**, Sur une pourriture bactérienne des Choux. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 20. p. 1356—1358.)
- Dupond, René**, Le bacille du charbon est mobile et pérित्रiche. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 19. p. 911—913.)
- v. Euler-Chelpin, H.**, Ueber Enzymreaktionen. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jg. XXXIII. 1905. N. 24. p. 280—281. [Chem. Gesellsch. Stockholm.]
- Fauré-Fremiet, Emmanuel**, Sur une sécrétion interne chez le *Cochliopodium pellucidum*. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 19. p. 905—907.)
- Grassberger, E.**, Ueber Anpassung und Vererbung bei Bakterien. Zugleich ein Beitrag zu Aërobiose anaërober Bakterien. (1. Mitt.) (Arch. f. Hyg. Bd. LIII. 1905. Heft 2. p. 158—179. 2 Taf.)
- Harden, Arthur**, Zymase und die alkoholische Gärung. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 22. p. 237—239. [Journ. of the Instit. of Brewing 1. 1905.]
- Harden, Arthur**, Zymase und alkoholische Gärung. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 23. p. 249—252. [Journ. of the Inst. of Brewing 1905.]
- Lehmann, K. B. und Curchod, Henri**, Beiträge zur Kenntnis der Bakterienniveaus von Beijerinck und der Bakteriengesellschaften von Jegunow. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 15/16. p. 449—459.)
- Leishman, W. B. and Statham, J. C. B.**, The development of the Leishman body in cultivation. (Journ. R. Army med. Corps. T. III. 1905. 14 p. 1 Taf. u. Fig.)
- Lodet und Marsais**, Ueber die gleichzeitige Bildung von Alkohol und Kohlensäure während der Gärung. La Revue technique 1905. (Ref. in Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 22.)
- Maassen, Albert**, Ueber Gallertbildungen in den Säften der Zuckerfabriken. Ein Beitrag zur Kenntnis der gallertbildenden Bodenbakterien. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. V. 1905. Heft 1. p. 1—36. 3 Taf. u. 1 Fig.)
- Neumann, P.**, Beitrag zur Lösung der Schaumgärungsfrage. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVIII. 1905. N. 21. p. 209—211.)

- Oppenheimer, Carl**, Die Fermente in ihrer biologischen Bedeutung. (Berlin 1905. 48 p. 8°. = Moderne ärztl. Bibl. Heft 16.)
- Pinoy**, Amibo-diatases des Acrasiées. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 16. p. 769.)
- Porcher, Ch.**, Recherches sur la lactase animale. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXL. 1905. N. 21. p. 1406—1408.)
- Schander, Richard**, Ueber Schwefelwasserstoffbildung durch Hefe. (Jahresber. d. Vereinig. d. Vertreter d. angew. Bot. Jg. II. 1903/1904. Berlin 1905. p. 85—121.)
- Seiler, F.**, Zusammensetzung der durch Bakterien gebildeten Schleime. Münster 1905. 45 p. 8°. 1,50 M.
- Sigmund, Wilhelm**, Die physiologischen Wirkungen des Ozons. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 15/16. p. 494—502.)
- Smith, Theobald**, Further observations on the transmission of *Sarcocystis muris* by feeding (Journ. of med. research. Vol. XIII. 1905. N. 4. p. 429—430.)
- Stoklasa, Julius und Vitek, E.**, Beiträge zur Erkenntnis des Einflusses verschiedenartiger Kohlenhydrate und organischer Säuren auf die Metamorphose des Nitrates durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 15/16. p. 493.)
- Swellengrebel, W. H.**, Ueber Plasmolyse und Turgorregulation der Preßhefe. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 15/16. p. 481—492. 9 Fig.)
- The Work of Bacteria. Essential soil changes produced by micro-organisms — Nitrogen from the atmosphere. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 5. p. 444—447. 1 Fig.)
- Vincent, H.**, Sur les propriétés pyogènes du bacille fusiforme. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 16. p. 772—774.)
- Wright, James Homer**, The biology of the microorganism of actinomycosis. (Journ. of med. research. Vol. XIII. 1905. N. 4. p. 349—404. 5 Taf.)

#### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

##### Luft, Wasser, Boden.

- Corsini, Andrea**, Sulla vera natura della così detta „albumina“ delle acque terminali di Porretta. Di un microorganismo non ancora descritto da quella isolato. (Lo Sperimentale = Arch. di biol. norm. e patol. Anno LIX. 1905. Fasc. 2. p. 221—240. 1 Taf.)
- Gilderaleve, Nathaniel**, Studies on the bactericidal action of copper on organisms in water. (American Journ. of the med. sc. Vol. CXXIX. 1905. N. 5. p. 754—760.)
- Gutachten des kaiserl. königl. Oesterreich. Obersten Sanitätsrates über die Verwendung der Salizylsäure zur Konservierung von Nahrungs- und Genußmitteln. (Deutsche Nahrungsmittel-Rundsch. Jg. III. 1905. N. 9. p. 75—76.)
- König, J. und Spieckermann, A.**, Beiträge zur Zersetzung der Futter- und Nahrungsmittel durch Kleinwesen. 5. Zusammensetzung der durch Bakterien gebildeten Schleime von Fr. Seiler. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. IX. 1905. Heft 9. p. 513—528.)
- Pennington, Mary Engle**, The action of electrically charged copper upon certain organisms in water. (American Journ. of the med. sc. Vol. CXXIX. 1905. N. 5. p. 751—754.)
- Rodella, Antonio**, Neue Ergebnisse auf dem Gebiete der bakteriologischen Wasseruntersuchung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 15/16. p. 503—510.)
- Rothe, W.**, Untersuchungen über das Verhalten einiger Mikroorganismen des Bodens zu Ammoniumsulfat und Natriumnitrat. Königsberg 1904. 45 p. 8°. 1,80 M.
- Thilbrick, B. G.**, Changes in the bacterial content of water in passing through a distributing reservoir. (Journ. of med. research. Vol. XIII. 1905. N. 4. p. 419—422.)
- Dr. Wileys Bericht über Borsäure und Prof. Dr. Dunbar in Hamburg. (Deutsche Nahrungsmittel-Rundsch. Jg. III. 1905. N. 9. p. 76—77.)

##### Nahrungsmittel.

- Böhm, Friedrich**, Die Nahrungs- und Genußmittel, deren Verunreinigung und Fälschung, besonders die der Milch, Maßregeln hiergegen, Beteiligung der Amtsärzte bei deren Durchführung, sowie an der Förderung der hygienischen Interessen ihres Bezirks. (München. med. Wehnschr. Jg. LII. 1905. N. 21. p. 1005—1009.)
- Ehde, H.**, Die Nahrungsmittelchemie im 2. Halbjahre 1904. (Chem. Ztschr. Jg. IV. 1905. N. 12. p. 274—277.)
- Windisch, Karl**, Die Bestimmung der Borsäure. (Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. IX. 1905. Heft 11. p. 641—660.)

##### Fleisch.

- Pfuhl, E.**, Ueber die Entstehung, Erkennung und Behandlung undichter Fleischkonservendbüchsen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. L. 1905. Heft 2. p. 317—323.)

**Profé**, Zur Technik der Trichinenschau. (Fortschr. d. Veterinär-Hyg. Jg. III. 1905. Heft 2. p. 31—35. 1 Fig.)

## Milch, Molkerei.

- Arthaud-Berthet, J.**, Sur l'oidium lactis et la maturation de la crème et des fromages. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXL. 1905. N. 22. p. 1475—1477.)
- Baumann, Ernst**, Ueber die Konservierung der Milch durch Wasserstoffsuperoxyd. (München. med. Wchnschr. Jg. LII. 1905. N. 23. p. 1083—1088.)
- Busse, Walter**, Notiz über einen vegetabilischen Käse aus Kamerun. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 15/16. p. 480.)
- Harrison, F. C.**, A comparative study of sixty-six varieties of gas producing bacteria found in milk. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 15/16. p. 472—480. 1 Taf.)
- Jensen, Orla und Plattner, Ernst**, Ueber den Einfluß des Erhitzens auf die Kuhmilch. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Jg. XIX. 1905. Heft 4. p. 235—250.)
- Koning, C. J.**, Biologische und biochemische Studien über Milch. 2. Teil: Die Zerlegungsphasen der Milch. (Milchwirtschaftl. Centralbl. Jg. I. 1905. Heft 5. p. 215—229.)
- Kruoger, R.**, Was ist hygienisch einwandfreie Milch? (Dtsche. landw. Ztg. Jg. XLVIII. 1905. N. 22. p. 131; N. 25. p. 145—146. [Dtsche. milchw. Ztg..])
- Nicolas, E.**, Sur la recherche du formol dans le lait. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 16. p. 1123—1124.)
- Reiss, F.**, Käsereifungsmittel oder sogenannte Käsereifen. (Milchwirtschaftl. Centralbl. Jg. I. 1905. Heft 5. p. 203—208.)
- Reitz, Adolf**, Hygienische Studien über das württembergische Molkereiwesen. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XV. 1905. Heft 8. p. 238—246.)
- Samarani, Franco**, Versuche zur Bereitung des Parmesan-Käses vermittelst Bakterienkulturen. (Milchwirtschaftl. Centralbl. Jg. I. 1905. Heft 6. p. 251—252.)
- Schaps, Leo**, Zur Frage der Konservierung der Milch durch Formaldehyd, speziell zum Zwecke der Säuglingsernährung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. L. 1905. Heft 2. p. 247—264.)
- Severin, S. und Budinoff**, Ein Beitrag zur Bakteriologie der Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 15/16. p. 463—472.)
- Trillat et Sauton**, Sur la présence de l'ammoniaque dans le lait de vache. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 17. p. 816—818.)
- , Sur un nouveau mode de caractérisation de la pureté du lait basé sur la recherche de l'ammoniaque. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 19. p. 1266—1268.)
- Wallich, V. et Levaditi, C.**, Sur la nature des éléments cellulaires du colostrum et du lait chez la femme. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 5. p. 321—333. 1 Taf.)

## Wein, Weinbereitung.

**Desmoulins, A. M.**, Les vins en futs. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1905. N. 40. p. 157—158.)

## Bier, Brauerei.

- tz.**, Alkoholfreie Biere. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jg. XXXIII. 1905. N. 21. p. 227—228.)
- Was ist Bier? (Chemiker-Ztg. Jg. XXIX. 1905. N. 38. p. 523—524.)
- Will, H.**, Vergleichende Untersuchung einiger in den letzten Jahren für den Brauereibetrieb empfohlenen Desinfektionsmittel. [4. Mitt.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVIII. 1905. N. 21. p. 330—333.)

## Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

- Ahlfeld, F.**, Die Sublimat-Händedesinfektion des neuen preußischen Hebammenlehrbuchs. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXI. 1904. N. 20. p. 795—796.)
- Clausen**, Eine Kläranlage nach biologischem Verfahren. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XV. 1905. Heft 8. p. 235—238. 1 Fig.)
- Der Kalk als Desinfektionsmittel in den Molkereien. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XIX. 1905. N. 18. p. 444.)
- Gemünd**, Ueber die Feuchtigkeit der Wohnungen. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspf. Bd. XXXVII. 1905. Heft 2. p. 297—310.)
- Hamm**, Die Beseitigung des Straßenstaubes. Gutachten. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspf. Bd. XXXVII. 1905. Heft 2. p. 359—362.)
- Hoffmann, W.**, Leitfaden der Desinfektion für Desinfektoren, Verwaltungsbeamte, Tierärzte und Aerzte. Leipzig (Barth) 1905. IX, 138 p. 105 Fig. 8°. 3 M.

- Kausch**, Neuerungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. (Centralbl. f. Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. 1905. N. 14/17. p. 425—452. 22 Fig.)
- Kausch**, Neuerungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. 1905. N. 18/20. p. 546—549. 22 Fig.)
- Levy, M.**, Wert und Anwendbarkeit der Desinfektion mit Formaldehydpräparaten. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspfl. Bd. XXXVII. 1905. Heft 2. p. 384—417.)
- Mende**, Ein Formalin-Desinfektionsschrank. (Therapeut. Monatshefte. Jg. XIX. 1905. Heft 6. p. 307—310. 2 Fig.)
- Perkuhn, Fritz**, Untersuchungen über Stalldesinfektion durch Formaldehyd-Wasserverdampfung mittels des Lingnerschen Apparates. Diss. med.-veter. Gießen 1905. 8°.
- Piot, R.**, Les moisissures des caves et celliers. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 36. p. 142.)
- Proskauer**, Städtische Kläranlagen und ihre Rückstände. (Gesundheits-Ingenieur. Jg. XXVIII. 1905. N. 14. p. 236—240.)
- Rodet, M. A.**, Expériences sur la valeur antiseptique du savon commun. Remarques sur l'action des antiseptiques en général et sur la biologie du Staphylocoque pyogène. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 6. p. 748—752.)
- Stahl, W.**, Bakteriologische und chemische Untersuchungen über Verunreinigung und Selbstreinigung kleinerer Flußläufe in der Umgebung von Freiburg i. B. Freiburg 1904. 78 p. 8°. 12 Karten u. Tabellen. 4 M.
- Wesenberg, G.**, Metakalin, ein festes Kreosolseifenpräparat. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 6. p. 740—748.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

#### Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- A mushroom disease (*Hypomyces verniciosus*). (Journ. of the board of Agric. Vol. XII. 1905. N. 1. p. 47—49. 3 Fig.)
- A new disease in potatoes. (Journ. of the board of Agric. Vol. XII. 1905. N. 1. p. 37—38. (*Sphaerella tabifica*.)
- A. V.**, Die Kräuselkrankheit der Pfirsichbäume. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXIII. 1905. Heft 23. p. 621—623. 1 Fig.)
- Beobachtungen über das Entstehen des Krebses an Apfelbäumen. (D. Dtsche Gartenrat. Jg. III. 1905. N. 113. p. 169—170.)
- Beunruhigendes Auftreten der Weinblattmilbe (*Phytoptus vitis*). Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 23. p. 265—267.)
- Capus, J.**, Les invasions de black rot en 1904. (Rev. de viticult. Année XII. 1905. N. 594. p. 486—489.)
- Capus, J.**, Les invasions de black rot en 1904. (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIII. 1905. N. 595. p. 523—528.)
- Carruthers, J. B.**, Canker of Para rubber (*Hevea brasiliensis*). (Trop. Agriculturist. N. Ser. Vol. XXIV. 1905. N. 9. p. 52—53.)
- Collar-rot on citrus trees. (Journ. of the Depart. of Agricult. of Western Australia. Vol. XI. 1905. P. 4. p. 268—270.)
- Collinge, W. E.**, Life-history of the Pear Midge, *Diplosis pyrivora* Riley. Birmingham 1905. 7 p. 8°. 2 Fig. —, 60 M.
- Duval, C.**, Ennemis et amis des arbres fruitiers, de la vigne et du rosier. Paris (Baillière et fils) 1905. 280 p. 8°. 157 Fig. 4 fr.
- Faes, H. et Porchet, F.**, La brunissure de la vigne. (Chronique agric. du Canton de Vaud. Année XVIII. 1905. N. 7. p. 169—174. 1 Fig.)
- Froggatt, Walter W.**, The insects of the Kurrajong. (Agric. Gaz. of New South Wales Vol. XVI. 1905. P. 3. p. 226—234. 2 Taf. u. 2 Fig.)
- Gandara, G.**, Los parásitos del Ganado. Comis. des Parasitol. agric. Circ. N. 18. Mexico 1905. 44 p. 8°. 55 Fig. 2 M.
- Gonnermann, M.**, Wurzelbrand. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XII. 1905. N. 9. p. 129—133.)
- Hall, A. D.**, The cucumber leaf blotch or „spot“ disease. (Journ. of the board of Agric. Vol. XII. 1905. N. 1. p. 19—21.)
- Henry, B.**, L'hyléose et l'hylésine du pin dans la Haute-Marne. (Ann. de la Sc. agron. franç. et étrangère. Sér. 2. Année X. 1905. T. I. Fasc. 1. p. 140—153.)
- Houard, C.**, Variation des caractères histologiques des feuilles dans les galles du *Juniperus oxycedrus* L. du Midi de la France et de l'Algérie. Compt. rend. Acad. Sc. T. CXL. 1905. N. 21. p. 1412—1414.)
- Insects on osiers and willows. (Journ. of the board of Agric. Vol. XII. 1905. N. 1. p. 49—51.)
- Köck, G.**, Septoria Lycopersi auf Paradeispflanzen und Phyllosticta Cyclaminis auf Cyclamen



- persicum. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VIII. 1905. Heft 5. p. 572—578. 4 Fig.)
- Köck, Karl**, Anisopteryx aescularia (Schiff), der Roßkastanienspanner, als Obstdschädling. (Der Obstgarten. Jg. XIII. 1905. N. 6. p. 85—86.)
- Korff, G.**, Ueber Wurzelkropfbildungen bei Obstbäumen. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 6. p. 66—69. 3 Fig.)
- Krasser, Fridolin**, Ueber eine eigentümliche Erkrankung der Weinstöcke. (Jahresber. d. Vereinig. d. Vertreter d. angew. Bot. Jg. II. 1903/1904. Berlin 1905. p. 73—84. 4 Fig.)
- Kühlmann, Eugen**, Ein neuer Rebfeind. (Landw. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. Jg. XXXIII. 1905. N. 20. p. 398.)
- Lange, Erwin**, Krankheiten der Kulturpflanzen. 1. Serie. Getreidekrankheiten. 3 farb. Taf. Je 98 × 69 cm. Mit Text. Leipzig, Lehrmittelanst. 1905. (Mutterkorn, Steinbrand, Stengelbrand.) 5 M.
- Mahnung zur Vorsicht beim Einkauf von La-Plata-Mais und von Reismehl. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 5. p. 55—57.)
- Mangin, L. et Viala, P.**, Sur le Stearophora radicola, Champignon des racines de la vigne. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXL. 1905. N. 22. p. 1477—1479.)
- Martin, Georges**, Traitement simultané de l'Endemia, du rot brun et de l'oïdium. (Rev. de viticult. Année XII. 1905. N. 599. p. 631—632.)
- Newstead, B.**, The felted beech coccus. (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1905. N. 12. p. 755—760. 5 Fig.)
- Prowasek, S.**, Ueber den Erreger der Kohlhernie Plasmodiophora brassicae Woronin und die Einschlüsse in den Carcinomzellen. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamt. Bd. XXII. 1905. p. 396—410. 1 Taf.)
- Reh, L.**, Die Blattfleckkrankheit der Tomaten in den Vierlanden. (D. prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. Jg. XX. 1905. N. 21. p. 189—190. 4 Fig.)
- Ross, H.**, Ueber Schädigungen des Haselstrauches und deren Bekämpfung. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 5. p. 49—53. 4 Fig.)
- Schröder, Chr.**, Bericht über die während des Jahres 1904 zur Einsendung gebrachten Schädlinge. (Landw. Wehnl. f. Schleswig-Holstein. Jg. LV. 1905. N. 23. p. 441—445.)
- Sigmund, Wilhelm**, Beiträge zur Kenntnis des Wurzelbrandes der Rübe. (Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 5. p. 212—221.)
- v. Tabeuf**, Die Hexenbesenkrankheit der Syringen in Bayern. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 4. p. 37—39. 2 Fig.)
- Ueber die Getreideroste, unter besonderer Berücksichtigung ihres Auftretens im Jahre 1904. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 4. p. 39—43.)
- Ueber die Getreideroste, unter besonderer Berücksichtigung ihres Auftretens im Jahre 1904. (Schluß.) (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 5. p. 54—55.)
- Ueber die Getreideroste, unter besonderer Berücksichtigung ihres Auftretens im Jahre 1904. (Forts.) (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 6. p. 64—66.)
- von Wahl**, Noch einmal die Triebspitzengallen von Abies-Arten. (Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 5. p. 204—207. 5 Fig.)
- Zimmermann, Hugo**, Eine neue Tarsonemusart auf Gartenerdbeeren. Brünn (Winiker) 1905. 14 p. 1 Taf. u. 1 Fig. (Aus Ztschr. d. mähr. Landesmuseums.) —, 60 M.

#### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

- Bear, William E.**, Spraying machines. (Journ. of the board of Agric. Vol. XII. 1905. N. 1. p. 8—18. 10 Fig.)
- Buhlert**, Die Bekämpfung des Hederichs. (Schluß.) (Georgine. Jg. LXXIII. 1905. N. 21. p. 194—196.)
- Carrar, Gae**, Un nuovo metodo di lotta contro le arvicole. Vicenza. edit. Galla. 1905. 65 p. 4°.
- Chausit, B.**, La lutte contre les cryptogames de la vigne. (Rev. de viticult. Année XII. 1905. N. 598. p. 612—614.)
- Chuard, E. et Porchet, P.**, Recherches sur l'adhérence comparée des solutions de verdet neutre et des bouillies cupriques, employées dans la lutte contre le mildiou. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 20. p. 1354—1356.)
- Der Kalk im Kampfe gegen die Gartenschädlinge. (Der Obstgarten. Jg. XIII. 1905. N. 6. p. 88—89.)
- Eckstein, Karl**, Ueber Anwendung von Fangkloben. 1. Zur Vertilgung des Hylobius abietis. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. Jg. XXXVII. 1905. Heft 4. p. 207—220.)
- Ewert**, Auftreten und Bekämpfung von Gloeosporium Ribis (Lob.). (Naturwiss. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 5. p. 200—204.)
- Experiments in the prevention of turnip fly. (Journ. of the board of Agric. Vol. XII. 1905. N. 1. p. 38—39.)

## Inhalt.

**Zusammenfassende Uebersichten.**

**Vogel, J.**, Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes durch Mikroorganismen, p. 33.

**Rahn, Otto**, Die Zersetzung der Fette, p. 53.

**Originalreferate aus bakteriol. u. gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.**

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

**van Hest, J. J.**, Gibt es wirklich große Vakuolen in den Hefezellen oder sind diese eine optische Täuschung? p. 61.

**Lindner**, Bemerkungen zu der vorläufigen Mitteilung von J. J. van Hest; Gibt es wirklich große Vakuolen in den Hefezellen u. s. w.? p. 61.

**Rommel**, Gibt es Vakuolen? p. 61.

**Tullo, T. W.**, Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Zuckerlösungen auf die Tötungstemperatur bei verschiedenen Hefearten, p. 62.

**Referate.**

**Bernard, N.**, Recherches expérimentales sur les Orchidées, p. 68.

**Busse**, Reisebericht III der pflanzenpathologischen Expedition des Kolonialwirtschaftlichen Komitees nach Westafrika, p. 76.

**Corsini, A.**, Ricerche chimiche e crioscopiche su l'aceto che si vende in Firenze, p. 66.

**Ducomet, V.**, La brunissure des végétaux et sa signification physiologique, p. 77.

**Falck, Richard**, Die Sporenverbreitung bei den Basidiomyceten und der biologische Wert der Basidie, p. 73.

**Frayse, A.**, Sur la biologie et l'anatomie de l'Osyris alba. — Sur le parasitisme de l'Osyris alba, p. 79.

**Guillon, J. M. et Perrier de la Bathie, L.**, Les criquets dans les Charentes, p. 80.

**Houard, C.**, Recherches anatomiques sur les Galles de Tiges: Acrocécidies, p. 78.

**Koning**, Biologische und biochemische Studien über Milch. Zweiter Teil: Die Zerlegungsphasen der Milch, p. 68.

**Lange, H.**, Anregung der Gärkraft der Hefe durch Reizmittel, p. 64.

**Maassen**, Ueber Gallertbildungen in den Säften der Zuckerfabriken, p. 66.

**Maire, E.**, La formation des asques chez les Pezizes et l'évolution nucléaire des Ascomycètes, p. 72.

**Mayet, Valéry**, Les cicadelles nuisibles à la vigne, p. 83.

**Masé, P. et Perrier, A.**, Production d'acide citrique par cytromyces, p. 65.

**Neumann-Wender**, Die reduzierenden Enzyme und ihre Beziehungen zur alkoholischen Gärung, p. 63.

**Schouteden, H.**, Description d'Aphides cécidiogènes nouveaux, p. 78.

**Sula, Jaroslav**, Ueber die Einführung und gegenwärtige Verbreitung der Reihefe in den Sudetenländern, p. 64.

**Volpino, Guido**, Sopra un interessante microorganismo radunatore d'azoto isolato dal terreno, p. 70.

**Weis, Fr.**, Bakterielivet i Jordbunden, og dets Betydning for Jordbruget, p. 69.

**Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.**

**Cao, G.**, Il metodo sierodiagnostico e il riconoscimento dell'amido del frumento, dell'orzo e della segale, p. 84.

**Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.**

**Couanon, G.**, Traitement d'hiver contre la Pyrale et la Cochylis en Champagne, p. 85.

**Dewitz, J.**, Ueber Fangversuche, angestellt mittelst Acetylenlampen an den Schmetterlingen von Tortrix pilleriana, p. 87.

**Ewert**, Auftreten und Bekämpfung von Gloeosporium Ribis (Lib.), p. 84.

**Henry, François**, Préparation des bouillies arsenicales pour combattre les altises, p. 85.

**Raebiger, H.**, Ueber Versuche zur Vertilgung der Ratten durch Bakterien, p. 86.

**Sula, Jar.**, Welchen Veränderungen unterliegt pasteurisiertes Bier? p. 84.

**Neue Litteratur**, p. 89.

Ueber die Temperaturmaxima der Sporenkeimung  
und der Sporenbildung, sowie die supramaximalen Tötungs-  
zeiten der Sporen der Bakterien, auch derjenigen mit hohen  
Temperaturminima.

Von Oskar Blau.

Mit 1 Tafel.

Unsere Kenntnis über die Temperaturmaxima für Sporenkeimung, Sporenbildung und Oidienwachstum der sporenbildenden Bakterien waren relativ gering, ebenso waren nur ganz wenige Versuche über die Tötungszeiten der Sporen bei supramaximalen Temperaturen gemacht. Die Versuche, welche Ellis (Arthur Meyer, Praktikum. 1903. p. 129—131) über die Tötungszeit anstellte, sind nur Vorversuche gewesen. Herr Professor Arthur Meyer hat mir deshalb die Aufgabe gestellt, diese biologischen Kardinalpunkte für die in seinem Institute in Kultur befindlichen sporenbildenden Bakterien unter seiner Leitung genauer zu untersuchen. Es lag ihm besonders auch daran, die Beziehungen zwischen den Maxima der Sporenkeimung und den Tötungszeiten der Sporen kennen zu lernen, und es war die Frage zu stellen, ob die Tötungszeiten der Sporen bei verschiedenen Temperaturen für die Species für alle Species in annähernd gleichartigen Zahlenverhältnissen stünden, oder ob die Species, infolge der verschiedenartigen Konstitution, sich hier verschiedenartig verhielten. Er war der Meinung, daß sich eventuell daraus Schlüsse über die Natur des Abtötungsvorganges ziehen lassen könnten. Zugleich sollte durch diese Untersuchung den bisher bekannten diagnostischen Merkmalen für die von Herrn Professor Arthur Meyer und seinen Schülern genau beschriebenen Species der sporenbildenden Bakterien (Gottheil 1899, Neide 1903, Ellis 1902. p. 1 ff.) neue und gute Merkmale hinzugefügt werden.

Da man bisher Species mit einem sehr hohen Maximum und Minimum, sogenannte „thermophile Species“, nicht genau kannte, wenn auch deren Existenz durch Globig (1888), Miquel (1888), durch Macfadyen und Blaxall (1894), Triklinsky (1898), Michaelis (1899), Rabinowitsch (1895), Sames (1900), Catterina (1904) und andere sicher festgestellt war, so habe ich auch 4 Species mit bei 40° C liegendem Minimum isoliert und so genau beschrieben, daß sie bei genauer Berücksichtigung aller Angaben wieder erkannt werden können.

Untersuchungen über die Temperaturmaxima für Sporenkeimung,  
Oidienwachstum, Sporenbildung

der folgenden Bakterienspecies:

Bacillus mycoides, Planosarcina ureae, Bacillus  
robur, B. cohaerens, Ellenbachensis, teres, carotarum,  
simplex, asterosporus, fusiformis, lactis, lacticola, alvei,  
Megatherium, pumilus, ruminatus, graveolens, tumescens,

sphaericus, silvaticus, Petasites, parvus, subtilis, subtilis  $\alpha$ , robustus, calidus, cylindricus, tostus.

Zur Lösung obiger Aufgaben wurden eine Reihe von Versuchen bei den Temperaturen von 60° C, 55°, 50°, 45°, 40°, 35°, 28–30° mit den obigen Species ausgeführt. Bei allen diesen Versuchen wurde stets, wenn nichts anderes bemerkt ist, folgendermaßen verfahren:

1) Als Nährsubstrat diente 3 % D Agar, d. h. ein Agarnährboden, der dreiprozentigen Agar enthielt, im übrigen nach der Vorschrift für Nähragar in A. Meyers Praktikum für Bakterienkunde p. 27 hergestellt war. Nur für die von mir isolierten 4 Species sind weiter hinten angeführte Nährböden:  $\frac{1}{2}$  D Agar und 3 D Agar benutzt worden.

2) Bei allen Versuchen, ausgehend von abgekochtem Sporenmaterial, wurde stets folgendermaßen verfahren: Von sämtlichen oben angeführten Species wurden je 2 Oesen 4–5 Wochen alten Sporenmaterials in sterilem Wasser genau 30 Sekunden gekocht. Von diesem abgekochten Sporenmaterial wurden stets 3 Oesen voll auf 3 % D Agarröhrchen übergeimpft und dann diese Röhrchen bei den in den Versuchen angeführten Temperaturen kultiviert.

3) Diejenigen Species, die beim Versuch mit abgekochtem Sporenmaterial bei einer bestimmten Temperatur nicht keimten, oder aber kein makroskopisches Wachstum, d. h. Koloniebildung zeigten, wurden bei derselben Temperatur nochmals, als Oidienmaterial, in folgender Weise kultiviert: 3 Oesen von 30 Sekunden abgekochtem Sporenmaterial der betreffenden Species wurden auf 3 % D Agarröhrchen übergeimpft und bei 28° C 16–18–20 Stunden, bis zum Auftreten kräftigen Oidienwachstums, kultiviert. Von diesem Oidienmaterial wurden 1–2 Oesen voll auf neue 3 % D Agarröhrchen übergeimpft, und wurden diese behufs Anpassung des Impfmateri als an den neuen Nährboden eine halbe Stunde bei 28° C belassen, um dann der betreffenden höheren Temperatur ausgesetzt und bei derselben weiter kultiviert zu werden.

4) Es werden in den Mitteilungen über die Befunde nur die positiven Ergebnisse angeführt. Alle Species wurden bei sämtlichen Versuchen in gleicher Weise makroskopisch und mikroskopisch untersucht. Hatten Species nicht gekeimt, oder waren Oidien nicht weiter gewachsen, war überhaupt keine Aenderung erfolgt, so wurden die betreffenden Species bei den Befundmitteilungen im allgemeinen unberücksichtigt gelassen. Ebenso wurden Species, deren Sporenmaterial bei höheren Temperaturen Degenerationserscheinungen und bloße Anschwellung der Sporen ohne darauffolgende Keimung zeigten, bei den Befundmitteilungen fortgelassen.

5) Zu allen Versuchen bei höheren Temperaturen, von Sporen- und Oidienmaterial ausgehend, wurden Kontrollkulturen auf demselben Substrat bei 28° C angesetzt und untersucht.

#### Versuche bei 60° C.

a) Versuche, von abgekochtem Sporenmaterial aller Species ausgehend.  
31. Mai 1904, 12 Uhr.

Betreffs Keimung des Sporenmaterials bei 60° C ergab der Versuch folgendes:

**Befund nach 24 Std.:** Keine der Species zeigt makroskopisch Wachstum, Koloniebildung. Mikroskopisch läßt sich feststellen: *B. subtilis* keine Koloniebildung, meist normale, wenige geringgradig geschwollene Sporen. *B. subtilis a* zeigt denselben Befund wie *subtilis*.

**Nach 48 Std.** *B. subtilis*: Befund wie nach 24 Std., ferner sehr vereinzelt deutlich äquatorial keimende Sporen, wenige Keimstäbe, Doppelstäbchen, meist kränklich,

mit körnigem Plasma oder durchscheinend, kein makroskopisches Wachstum. *B. subtilis*  $\alpha$ : Befund wie nach 24 Std., eine äquatorial keimende Spore ferner gefunden, kein makroskopisches Wachstum.

Nach 72 Std. Befund wie nach 48 Std.

Nach 96 Std. *B. subtilis*: Viele normale, ungekeimte Sporen, ferner schwach geschwollene, trüb durchscheinende Sporen, einmal eine äquatorial keimende Spore, im selben Stadium, wie die nach 48 Std. gesehenen beobachtet, sehr vereinzelt tote Keimstäbe mit degeneriertem, körnigem Plasmahalt, kein makroskopisches Wachstum. *B. subtilis*  $\alpha$ : keine Koloniebildung, sonst Befund wie nach 48 Std.

Nach 120 Std. *B. subtilis*: Keine Kolonie, meist ungekeimte und degenerierte Sporen, Reste und degenerierte Keimstäbchen. *B. subtilis*  $\alpha$ : keine Kolonie, meist ungekeimte und degenerierte Sporen.

Nach 144–312 Std. Befund wie bisher.

Nach 336 Std. Keine Species außer *B. subtilis*, und *B. subtilis*  $\alpha$  hat gekeimt, Koloniebildung bei 60° C hat keine von allen Species gezeigt.

Soweit sich bei der letzten Befunderhebung noch Sporenmaterial von Röhrrchen von 60° C entnehmen läßt, zeigt dasselbe degeneriertes Aussehen. Die Sporen sind meist stark geschwollen, durchsichtig, ohne Plasmahalt, nicht scharf konturiert. Verschiedene dieser Sporenarten verbrachte ich auf Agarröhrrchen und hielt sie bei 28° C, sie keimten jedoch in keinem der Fälle aus.

#### b) Versuche bei 60° C, von Oidienmaterial ausgehend.

12. November 1904, 12 Uhr.

Befund nach 24 Std. *B. subtilis*: Es hat sich auf den Impfstellen ein feiner, hauchartiger, körniger Belag gebildet, der aus degenerierten Einzel- und Doppelstäbchen, kurzen, oft geknickten, degenerierten 3–4–5-stäbigen Fäden besteht. *B. subtilis*  $\alpha$  zeigt denselben Befund wie *subtilis*.

Befund nach 336 Std. *B. subtilis*: Der feinkörnige Belag ist zurückgegangen, es finden sich bei mikroskopischer Untersuchung Membranreste und körnige Plasmamassen. *B. subtilis*  $\alpha$ : Befund wie bei *subtilis*. Die Kulturen aller übrigen Species zeigten schon nach 24 Std. nur Plasmareste und Degenerationserscheinungen.

Die Kontrollversuche zu den Versuchen mit Sporen-, sowie Oidienmaterial bei 28° C verhielten sich entsprechend den betreffenden Literaturangaben bei Gottheil und Neide.

Um das Verhalten von *B. subtilis* und *subtilis*  $\alpha$  bei 60° C noch weiterhin genauer zu untersuchen, wurden noch folgende Versuche a–g angestellt:

Versuch a. Sporen von *B. subtilis* und *B. subtilis*  $\alpha$  werden nur 15 Sek. abgekocht und auf 3 % D Agar bei 60° C kultiviert. Dazu wie zu allen folgenden Versuchen Kontrollversuche bei 28° C. Resultat: Nach 8 Tagen kein makroskopisches Wachstum.

Versuch b. Sporen von *B. subtilis* und *B. subtilis*  $\alpha$  werden 15 Sek. gekocht und auf 3 % Agar ohne D bei 60° C kultiviert. Resultat: Nach 8 Tagen kein makroskopisches Wachstum.

Versuch c. Sporen von *B. subtilis* und *subtilis*  $\alpha$  werden 15 Sek. gekocht, auf 3 % D Agar erst 2½–3 Std. bei 28° C, also die halbe Zeit bis zur Sporenkeimung, belassen und dann weiter bei 60° C kultiviert. Resultat: Nach 8 Tagen kein Wachstum.

Versuch d. Sporen von *B. subtilis* und *subtilis*  $\alpha$  werden 15 Sek. gekocht, erst 20 Std. bei 28° C, dann weiter auf 3 % D Agar bei 60° C gehalten. Befund der Kulturen bei 28° C nach 20 Std. *B. subtilis*: dünne, grauweiße häutige Kolonie aus Schwärmern, Ruhestäbchenhaufen, vielstäbigen Fäden; Rahmhaut auf dem Kondenswasser. *B. subtilis*  $\alpha$ : fast wie *subtilis*.

Befund bei 60° C nach 4 Wochen. *B. subtilis*: Ein körniger, dünner, grau-bräunlicher Belag auf der Agarfläche, bestehend aus toten Sporen, degenerierten Stäben und Fadenstücken. *B. subtilis*  $\alpha$ : dünner, bräunlicher Belag auf dem Agar aus toten, degenerierten Sporen, Resten.

Versuch e. Sporen von *B. subtilis* und *subtilis*  $\alpha$  werden 15 Sek. gekocht, erst 2½–3 Std. auf 3 % Agar ohne D bei 28°, dann weiter bei 60° C kultiviert. Resultat: Nach 8 Tagen kein Wachstum.

Versuch f. Sporen von *B. subtilis* und *subtilis*  $\alpha$  werden erst, nach 15 Sek. langem Abkochen, 20 Std. bei 28° C auf 3 % Agar ohne D belassen und dann bei 60° C weiter kultiviert. Befund nach 4 Wochen derselbe wie bei Versuch d.

Die obigen Versuche zeigen also, daß es für das event. Wachstum der beiden Species bei 60° C gleichgültig ist, ob wir das Sporenmaterial 30 Sek., oder ob wir es weniger Sek. abkochen. Ferner sehen

wir, daß weder bei 60° C noch bei niedrigerer Temperatur gekeimte Sporen von *B. subtilis* jemals bei 60° C weiterwachsen, weder auf Agar ohne, noch mit Dextrose. Erst wenn wir 20—24 Std. bei 28° C als Ausgangsmaterial für Kulturen bei 60° C benutzten, wuchs der Spaltpilz bei mehreren Versuchen anfangs schwach und kränklich weiter, um bald gänzlich zu degenerieren.

Inwieweit die Konzentration der Nährstoffe des Agar-nährbodens von Einfluß auf das Wachstum verschiedener Species bis 60° C ist, zeigten spätere Versuche, die ich mit Oidien-Material von *B. subtilis* auf  $\frac{1}{3}$  D Agar vornahm. Auf diesem Substrat zeigte *B. subtilis* ausgesprochen besseres Wachstum als auf 3 % D Agar. Aus diesen letzteren Versuchen geht also hervor, daß die allgemeinen, aus meinen Versuchen gezogenen Schlüsse und Resultate nur bei genauer Beachtung der gesetzten Versuchsbedingungen Gültigkeit haben.

30. Juni. Versuch: Vergleich des Wachstums und der Kulturen von *B. subtilis* bei bis 60° C mit denen bei 28° C.

Zum Vergleiche werden am 30. Juni 11 Uhr 2 Röhrchen mit 30 Sek. gekochtem Sporenmaterial von *B. subtilis* (4 Wochen altes Material) geimpft. Nach 7 Std. ist Sporenkeimung in beiden Röhrchen eingetreten. 7 Std. nach der Impfung wird Rohr I mit Sporen, keimenden Sporen und Keimstäbchen, von 28° C auf 60° C verbracht und dort weiter kultiviert. Rohr II verbleibt bei 28° C.

**Befund nach 24 Std.** Rohr II, 24 Std. bei 28°: Die Kolonie besteht vorwiegend aus Einzel- und Doppelschwärmern, sehr vereinzelt Einzelstäbe mit Sporenanlage (Methylenblau 1 + 10). Rohr I: 7 Std. bei 28° und dann 17 Std. bei 60°: Einzelne normale Sporen, ziemlich viele stark färbare tote Sporen, ferner Keimstäbchen mit anhaftender Sporenmembran; es lassen sich alle von Gottheil für *B. subtilis* beschriebenen Arten der Sporenkeimung nachweisen, es finden sich meist degenerierte Kurzstäbe, Langstäbe etc. Da viele keimende Sporen in diesem Stadium vorhanden sind, so ist anzunehmen, daß diese in dem Stadium, in welchem sie sich bei ihrer Verbringung von 28° auf 60° gerade befanden, zum größten Teil verblieben sind. Viele der Keimstäbe zeigen nicht das homogene Aussehen derjenigen bei 28°, sondern weisen granulierte, unregelmäßig zusammengeballte Plasmamassen, die sich mit Methylenblau 1 + 10 blau färben, auf. Es finden sich ferner 2—4-stäbige Fäden, zum Teil mit denselben körnigen Inhaltsmassen.

**Befund nach 40 Std.** Rohr II, 40 Std. bei 28° C: Makroskopisch dicke Kolonie vorwiegend aus Schwärmoidien, Ruhestäbchen und vereinzelt Stäben mit Sporenanlage (Methylenblau 1 + 10), ferner vereinzelt reife Sporangien. Rohr I, 7 Std. bei 28° und 33 Std. bei 60°: Noch immer ziemlich viel ungekeimte Sporen; ferner wenige normale Einzel- und Doppelstäbe; ziemlich viele degenerierte Sporen und Stäbchen. Makroskopisch ist nur ein körniger, hauchartiger Belag wahrnehmbar.

#### Versuche bei 55 C° 10. Dez. 12 Uhr.

a) Von abgekochtem Sporenmaterial ausgehend.

**Befund nach 24 Std.** *B. subtilis*: keine Koloniebildung, meist ungekeimte, normale und degenerierte Sporen, sehr wenig Keimstäbchen. *B. subtilis* α: keine Kolonie, meist ungekeimte, oft etwas angeschwollene Sporen.

**Nach 48 Std.** *B. subtilis*: dünne, graugelbliche Kolonie. Mikroskopischer Befund: meist Einzel-, Doppelstäbchen, ferner Membranreste. *B. subtilis* α: Befund wie bei *subtilis*. *B. parvus*: stellenweiser, feiner, körniger Belag aus dünnen, meist mit körnigem Plasmahalt gefüllten Einzel-, Doppelstäbchen, kurzen, gekrümmten, meist unseptierten Fadenstücken.

**Nach 264 Std.** *B. subtilis*: dünne, grauweiße Kolonie, meist degenerierte Stäbchen, unseptierte Fäden, dazwischen nicht viel Sporangien und freie Sporen, diese zum Teil plasmaleer, inhaltlos. *B. subtilis* α: wie *subtilis*. *B. parvus*: Der Belag ist zurückgegangen, so daß keine Kolonie mehr sichtbar ist.

b) Versuch mit Oidienmaterial. 10. Jan. 1905 12 Uhr.

**Befund nach 24 Std.** *B. parvus*: Es zeigt sich ein dünner Koloniesaum ober-

halb des Kondenswassers; derselbe besteht aus Einzel-, Doppelstäbchen, 3—4-stäbigen, kurzen Fäden.

**Nach 336 Std.** *B. parvus*: Der Saum hat etwas an Ausdehnung zugenommen, die Kolonie besteht vorwiegend aus degenerierten Morphoden.

#### Versuche bei 50° C 5. Nov. 1904 12 Uhr.

##### a) Von abgekochten Sporen ausgehend.

**Befund nach 24 Std.** *B. Megatherium*: keine Kolonie, ungekeimte Sporen, einige wenige Keimstäbchen. *B. subtilis*: grauweiße, dünne, häutige Kolonie, bestehend aus Einzel-, Doppelstäbchen, vielen reifen Sporangien mit wenig Glykogen, ferner freie Sporen vorhanden. *B. subtilis* α: Befund wie bei *subtilis*.

**Nach 48 Std.** *B. Megatherium*: keine Koloniebildung; meist ungekeimte Sporen, einige wenige polarkeimende Sporen. *B. ruminatus*: keine Koloniebildung, meist ungekeimte, geschwollene Sporen, einige wenige polarkeimende Sporen. *B. parvus*: keine Kolonie, meist ungekeimte Sporen, im Kondenzwasser wenig keimende Sporen und Keimstäbchen.

**Nach 72 Std.** *B. Megatherium*: keine Kolonie, sonst wie nach 48 Std. *B. ruminatus*: keine Kolonie, sonstiger Befund wie nach 48 Std. *B. parvus*: schwacher Saum oberhalb des Kondenswassers aus Einzel-, Doppelstäbchen, ferner im Kondenswasser gerade und gekrümmte Stäbchen, zum Teil mit körnigem Plasmainhalte.

**Nach 96 Std.:** Befund wie nach 48 resp. 72 Std.

**Nach 120 Std.** *B. Megatherium*: keine Kolonie, meist ungekeimte Sporen, sehr wenig degenerierte Keimstäbe. *B. parvus*: kleine Koloniebildung oberhalb des Kondenswassers als feiner Saum. Im übrigen Befund wie bisher.

**Nach 192 Std.:** Befunde wie früher; ferner *B. parvus*: es haben sich dicht oberhalb des Kondenswassers mehrere kleine Einzelkolonien gebildet, die aus Einzel-, Doppelstäbchen bis kurzen, 4-stäbigen Zellfäden mit schlanken Stäbchen bestehen. Viele Stäbchen sind geknickt und degeneriert.

Von 192—288 Std. nach der Impfung treten keine auffallenden Veränderungen in den Kulturen auf.

**Nach 312 Std.** *B. parvus*: Die Kultur zeigt das Aussehen wie nach 192 Std.; es ist kaum Wachstum zu konstatieren. *B. subtilis* und *subtilis* α bilden gesunde Kolonien, die fast nur aus freien Sporen bestehen.

##### b) Von Oidienmaterial ausgehend. 6. Okt. 12 Uhr.

**Befund nach 24 Std.** Keine Species zeigt Wachstum.

Die folgende, bis zu 264 Std. fortgesetzte, tägliche Untersuchung ergibt bei keiner Species Wachstum.

**Nach 288 Std.** Das aufgeimpfte Oidienmaterial ist durchweg degeneriert. Keine der Oidienkulturen zeigte Wachstum bei 50° C.

#### Versuche mit allen Species bei 45° C.

##### a) Ausgehend von abgekochten Sporen. 22. Juli 12 Uhr.

**Befund nach 24 Std.** *B. simplex*: keine Kolonie, ungekeimte, zum Teil etwas geschwollene Sporen, im Kondenswasser einige wenige verschieden lange Einzel-, Doppelstäbchen und mehrstäbige Fäden. *B. lactis*: feiner Saum auf dem Agar, oberhalb des Kondenswassers, bestehend aus meist normalen, ungekeimten Sporen, ferner geschwollenen Sporen; es sind nur vereinzelt Keimungen und Keimstäbchen zu finden. *B. Megatherium*: dünne, zusammenhängende, breite, gelbliche Kolonie mit dickeren, punktförmigen Einzelkolonien besetzt; die Kolonien bestehen aus Einzel-, Doppelstäbchen, 4—6—8—10-stäbigen Fäden, 1- und 2-zellig, die meist mäßig viel kleine, selten größere Fettkugeln enthalten. *B. pumilus*: homogene, sehr dünne, agarfarbene Kolonie aus Einzel-, Doppelstäbchen, längeren unseptierten, homogenen Fäden. *B. ruminatus*: dünne, weißliche, aus zusammengeflossenen rundlich-länglichen Einzelkolonien gebildete Strichkolonie in der Nähe des Agarrandes; neben Stäbchen finden sich vorwiegend 4—12-stäbige Fäden; ferner finden sich viele abnorm gekrümmte, zum Teil geschwollene Stäbchen und Fäden mit vielen kleinen Fettkugeln. *B. graveolens*: punktförmige Einzelkolonien, die stellenweise zu einem dünnen, gelbweißen Belag zusammengeflossen sind; dieser besteht vorwiegend aus Doppelstäben und 4—6-stäbigen Fäden. Alle diese Morphoden enthalten viel weniger Fett als die Kontrollkulturen bei 28°. *B. tumescens*: Stellenweise dünner, weißer Belag, ferner rundliche Einzelkolonien vorhanden, bestehend aus Stäbchen bis 6-stäbigen Fäden. In den meisten Stäben kleinere, in wenigen Stäben und Fadenstäbchen größere Fettkugeln. *B. sphaericus*: keine Koloniebildung, meist normale, ungekeimte Sporen vorhanden; im Kon-

denswasser finden sich wenige Schwärmoidien. *B. silvaticus*: mäßig dicker, gelbweißer, zusammenhängender Belag; derselbe besteht aus Stäbchen von verschiedener Länge und 3—6-stäbigen, 1- und 2-zelligen Fäden, in denen Fett, jedoch weniger als in der Kontrollkultur, vorhanden ist; ferner finden sich ziemlich viele, etwas geschwollene, oft fast runde und sehr kurze Zellen in den Zellfäden, häufig kommen auch Fäden mit zugespitzten Endstäbchen vor. *B. Petasites*: dünne, weißliche, homogene Kolonie, 1,3 cm lang, bestehend aus Stäbchen, Zellfäden von 3—8 Fäden, diese 1- und 2-zellig; die Stäbe sind häufig geschwollen, oft unregelmäßig geformt, oft kurz und rundlich, dabei meist geschwollen; typische Schwellformen! — In allen Morphoden findet sich viel Fett, besonders viel in den Schwellformen; dicht oberhalb des Kondenswassers finden sich noch vereinzelt polar und äquatorial keimende Sporen und Keimstäbchen. *B. parvus*: dünner Belag auf dem Agar, bestehend aus Einzel-, Doppelstäbchen, vielen Schwärmern und Doppelschwärmern. *B. subtilis*: mäßig dicker, den ganzen Agar bedeckender Ueberzug, derselbe ist häutig, von grauweißer Farbe, mit einem Stich ins Gelbliche, zeigt sehr geringe Faltenbildung; auf dem Kondenswasser zeigt sich ein dünnes Kahmhäutchen. Mikroskopischer Befund: Viele neu-gebildete Sporen, reife Sporangien, dazwischen noch Schwärmer. In den jungen Sporangien läßt sich namentlich an den Polen Glykogen in mäßiger Menge nachweisen. *B. subtilis*  $\alpha$ : mäßig dicker, gelbweißer Ueberzug, der zum Teil faltig ist. Der Ueberzug ist ziemlich trocken, zeigt nur schwachspiegelnden Glanz. Es ist eine Kahnhaut vorhanden, von welcher aus hohe Runzeln auf die Agarfläche ausgehen. Auch hier finden sich viele freie Sporen, reife und junge Sporangien, wie bei *subtilis*.

Nach 48 Std. Befund der im folgenden nicht angeführten Species. Derselbe wie nach 24 Std. *B. simplex*: keine Kolonie, meist ungekeimte, zum Teil geschwollene Sporen, im Kondenswasser wenige längere, unseptierte Fäden. *B. subtilis*: trockene, grauweißliche Kolonie, die zum größten Teil aus freien Sporen besteht. *B. subtilis*  $\alpha$ : Befund wie bei *subtilis*. Im übrigen ist allgemein zu bemerken, daß die vorhandenen Kolonien der anderen Species makroskopisch sehr wenig oder gar nicht gewachsen sind.

Nach 72 Std. *B. simplex*: keine Kolonie, meist ungekeimte Sporen, im Kondenswasser mäßig viele längere, meist unseptierte Fäden. *B. alvei*: keine Kolonie, ungekeimte und degenerierte Sporen, einige wenige degenerierte Keimstäbchen. *B. Megatherium*: Kolonie nicht gewachsen, zeigt kränkliches Aussehen; vorwiegend finden sich 2—6-stäbige Zellfäden mit wenigen kleineren Fettkugeln; ferner sind ziemlich viele degenerierte Stäbe vorhanden. *B. pumilus*: Kolonie nicht gewachsen; bestehend aus Stäbchen, 3-stäbigen Zellfäden; darunter ziemlich viele Stäbe mit granuliertem Plasma. *B. graveolens*: Kolonien nicht gewachsen, Befund wie nach 24 Std.; ferner jetzt vielfach unregelmäßig gekrümmte; runde, geschwollene Fadenstäbe und Stäbchen mit ziemlich vielen Fettkugeln. *B. tumescens*: Befund wie nach 24 Std., ferner ziemlich viele Fäden mit runden, kurzen Stäbchen und Fett. Schwellformen. *B. sphaericus*: ganz schwacher Belag auf dem Agar, bestehend aus Einzel- und Doppelstäbchen mit wenig Glykogen und kleinen Volutanskugeln. *B. silvaticus*: Kolonie etwas gewachsen; Befund wie nach 24 Std.; ferner einzelne reife Sporangien und ziemlich viele Schwellformen, Fett außer in den Schwellformen im allgemeinen reduziert. *B. Petasites*: Kolonie ein wenig gewachsen; Befund wie nach 24 Std.; ferner ziemlich viel Fadenstücke mit körnigem Plasma.

Nach 96 Std. *B. lactis*: keine Kolonie, meist ungekeimte Sporen, vereinzelt Keimstäbchen. *B. Megatherium*: Kolonie sehr wenig gewachsen; Befund wie nach 48 Std. *B. pumilus*: Dünne agarfarbene Kolonie aus sehr verschieden langen Einzel- und Doppelstäbchen. *B. ruminatus*: Kolonie ist nicht gewachsen. *B. graveolens*: wenige kleine Kolonien aus Stäbchen, Fäden und degenerierten Morphoden bestehend. *B. tumescens*: Kolonie nur wenig gewachsen; Befund wie nach 24 Stunden; ferner vereinzelt Stäbchen mit Sporenanlage (Methylenblau 1 + 10). *B. sphaericus*: Kolonie ebenso dünn etc. wie nach 72 Std. *B. silvaticus*: Befund wie nach 48 Std., ferner vereinzelt reife Sporangien. *B. Petasites*: Kolonie etwas gewachsen; meist Stäbchen mit deutlicher Sporenanlage. Schwellformen finden sich wenige in Form von kurzen, runden, geschwollenen Fadenstäbchen mit größeren Fettkugeln. *B. parvus*: dünner Belag aus Stäbchen, Schwärmern; darunter vereinzelt reife Sporangien.

Nach 120 Std. Befund wie bisher, ferner: *B. pumilus*: dünne, gesunde Kolonie wie nach 96 Std. *B. sphaericus*: Kolonie zurückgegangen, es finden sich vorwiegend degenerierte Einzel- und Doppelstäbe. *B. silvaticus*: Befund wie nach 96 Std., ferner viele zweizellige Stäbchen, einige reife Sporangien. *B. Petasites*: Befund wie nach 96 Std., ferner sehr wenig reife Sporangien (Chloralhydrat), ziemlich wenig Stäbe mit Sporenanlage. Das Plasma in den Fadenstäben ist oft degeneriert. *B. parvus*: dünne Kolonie aus Stäbchen, wenig reifen Sporangien.

Nach 144 Std. *B. sphaericus*: Kolonie stark zurückgegangen.



**Nach 336 Std.** *B. lactis*: keine Kolonie, meist ungekeimte Sporen, oft degeneriert, einige degenerierte Stäbchen. *B. Megatherium*: dünne kränkliche Kolonie aus Stäbchen und 3—4-ständigen Fäden; längere Fäden finden sich seltener, Fett stark reduziert, viele Stäbchen mit körnigem Plasma. *B. pumilus*: dünner Belag aus Einzel- und Doppelstäbchen, häufig mit granuliertem Inhalt. *B. ruminatus*: dünne gelbweiße bis gelbbraunliche Kolonie aus Stäbchen, vielen 4—6-ständigen Zellfäden, oft aus Schwellformen bestehend; einzelne Stäbe mit Sporenanlage; ziemlich wenig Fett; ferner viele degenerierte Morphoden. *B. graveolens*: Punktkolonien, aus Stäbchen, 4—12-ständigen Fäden, oft degeneriert, mit kleinen Fettkugeln, bestehend. *B. tumescens*: kleine Kolonien aus sehr vielen kurzen Stäben, ferner 4—6-ständige Fäden, oft degeneriert. *B. sphaericus*: stellenweise Belag aus meist degenerierten Stäben. *B. silvaticus*: Kleine zusammenhängende Kolonien; Befund wie nach 72 Std. *B. Petasites*: mehrere kleine Kolonien vorwiegend aus Stäbchen, ziemlich viele mit Sporenanlage, ziemlich wenig reife Sporangien, vereinzelt freie Sporen. *B. parvus*: dünne Kolonie aus Stäbchen, mäßig vielen reifen Sporangien.

b) Versuche bei 45° C. von Oidien ausgehend. 25. XI. 12 U.

**Befund nach 24 Std.** Keine der betreffenden Species zeigt Wachstum.

**Nach 72 Std.** *B. alvei*: Dünner, stellenweiser agarfarbener Ueberzug, aus Schwärmoidien bestehend.

**Nach 120 Std.** *B. alvei*: Die Kolonie ist etwas gewachsen, einige Stäbe zeigen Sporenanlage; wenige Sporangien.

**Nach 336 Std.** Von sämtlichen angesetzt Species zeigte nur *B. alvei* bei 45° C° (Oidien als Ausgangsmaterial) Wachstum und Sporenbildung. Die Kolonie ist dünn, agarfarben, weist ziemlich wenig reife Sporangien und freie Sporen neben anderen Morphoden auf.

#### Versuche bei 40 C°: 3. Juli 1904 12 Uhr.

a) Versuche mit abgekochten Sporen.

**Befund nach 24 Std.** *B. cohaerens*: Keine Kolonie; mikroskopischer Befund: normale und stark geschwollene Sporen, wenige polar keimende Sporen. *B. teres*: Meist ungekeimte Sporen; feiner Saum aus polar und äquatorial keimenden Sporen und Keimstäbchen. *B. asterosporus*: Keine Koloniebildung; mikroskopischer Belag aus fast nur normalen, ungekeimten Sporen. *B. fusiformis*: schwach sichtbarer, agarfarbener Saum; aus normalen ungekeimten Sporen, ferner polar keimenden Sporen und angeschwollenen Sporen. *B. lactis*: Mäßig dicke, weiße, gleichmäßige Kolonie aus Stäben, ein- und zweizellig, bis 8-ständigen Fäden mit viel Fettkugeln und kleinen Volutanskugeln; ferner Fäden mit etwas geschwollenen Stäben, die größere Volutanskugeln enthalten. *B. lacticola*: Dünne, weißliche Kolonie aus vorwiegend Doppelstäben, ferner 4—6-ständige Zellfäden und kurze, dicke, rundliche Einzelstäbe; Fett und Volutin mäßig viel. *B. alvei*: Ganz dünne agarfarbige, durchsichtige Kolonie aus Stäbchen, Schwärmern, reifen Sporangien mit kleinen Volutinkugeln. *B. Megatherium*: Weißliche, wenig glänzende Kolonie aus Stäbchen, bis 6-ständigen, ein- und zweizelligen Fäden mit weniger Fett als bei 28° C. *B. pumilus*: Dünne agarfarbene Kolonie, glänzend, aus Schwärmern bestehend. *B. ruminatus*: dicke, weißliche, schleimige, etwas runzliche Kolonie aus meist 2—6-ständigen, zweizelligen Zellfäden; ferner bis 10-ständige Zellfäden mit viel Fett, einzelne reife Sporangien. *B. graveolens*: Dicke, häutige, faltige, oder fein runzliche Kolonie aus Stäben, ferner bis 10-ständigen Zellfäden mit viel Fett, gerade und gekrümmt. *B. tumescens*: Dicke, stumpfe, wenig glänzende, etwas schleimige Kolonie vorwiegend aus Stäbchen, bis 6-ständige Zellfäden, z. T. Schwellformen mit viel Fett führend; einzelne Stäbe mit kleinen, die meisten mit großen Fettkugeln. *B. sphaericus*: Kaum sichtbarer Belag aus Stäbchen, vielen Schwärmern, ziemlich vielen reifen Sporangien mit Volutin. *B. silvaticus*: Weißgelbe, dicke Kolonie aus Stäbchen, 4—6-ständigen Fäden mit viel Fett, öfter mit Sporenanlage; einzelne reife Sporangien; mäßig viele Fäden, kurze, runde, geschwollene Stäbchen, Schwellformen führend; andere Fäden mit zugespitzten Endstäben. *B. Petasites*: dicke, weißgelbliche, glasig glänzende Kolonie aus Stäbchen, 4—6-ständigen Zellfäden mit vielen Fettkugeln, viele reife Sporangien. *B. parvus*: dünne glasige Kolonie aus Stäbchen, wenigen 3-ständigen Fäden. *B. subtilis*: dünne grauweiße, glanzlose häutige Kolonie aus vielen reifen Sporangien mit Glykogen, vielen freien Sporen. *B. subtilis* α; schmutzig weiße, etwas schleimige Kolonie aus Sporangien, Sporen etc.

**Nach 48 Std.** *B. cohaerens*: keine Kolonie; Sporen, keimende Sporen, Keimstäbe, wenige längere, unseptierte Fäden. *B. Ellenbachensis*: feiner Saum aus polar keimenden Sporen, Keimstäbchen, wenigen 4—10-ständigen Zellfäden. *B. teres*: hauchartige Kolonie, sonst wie nach 24 Std. *B. Carotarum*: keine Kolonie; wenige

äquatorial keimende Sporen. *B. simplex*: keine Kolonie, ungekeimte und geschwollene Sporen; im Kondenswasser einige Keimstäbe, Doppelstäbe, lange, unseptierte Fäden. *B. asterosporus*: keine Kolonie; keimende und ungekeimte Sporen, viele degenerierte Sporen. *B. fusiformis*: feine, dünne Kolonie aus Einzel- und Doppelstäben mit wenig Volutin, Schwärmern. *B. lactis*: weiße Kolonie vorwiegend aus Stäbchen; ferner bis 6-stäbige Fäden, einzelne reife Sporangien in Fäden, einzelne freie Sporen. *B. lacticola*: dünne Kolonie vorwiegend aus Stäbchen; ferner stäbige Fäden, vereinzelt Sporangien; die Fäden enthalten viel Fett und Volutin. *B. alvei*: Befund wie nach 24 Std.; ferner einige freie Sporen. *B. Megatherium*: weißliche Kolonie aus Stäben, im übrigen wie nach 24 Std. *B. ruminatus*: wie nach 24 Std.; ferner viele freie Sporen. *B. graveolens*: wie nach 24 Std.; ferner viele reife Sporangien und einzelne freie Sporen. *B. tumescens*: wenig reife Sporangien gebildet. *B. sphaericus*: Reife Sporangien mit Volutin und freie Sporen gebildet. *B. silvaticus*: Dicke gelbbraunliche Kolonie; vereinzelt freie Sporen zu finden, sonst wie bisher. *B. Petasites*: wie nach 24 Std.: ferner einzelne freie Sporen gebildet. *B. parvus*: glasige, gelbliche Kolonie aus Einzel- und Doppelstäbchen; vereinzelt reife Sporangien mit Glykogen.

Nach 72 Std. *B. cohaerens*: Befund wie nach 48 Std.; keine Kolonie. *B. Ellenbachensis*: Saum wie nach 48 Std.; die Morphoden meist degeneriert. *B. teres*: kaum sichtbarer Saum aus geschwollenen Sporen und degenerierten Stäbchen. *B. Carotarium*: ungekeimte Sporen, vereinzelt Keimstäbchen und keimende Sporen. *B. simplex*: Keine Kolonie, meist ungekeimte Sporen; im Kondenswasser einige Stäbchen und lange, unseptierte Fäden. *B. asterosporus*: Dünner Belag aus sehr ungleich langen Stäbchen, mit wenig Glykogen und Volutin. *B. lactis*: Wie nach 48 Std.; ferner mehr freie Sporen. *B. lacticola*: wenige längere Zellfäden; ferner reife Sporangien und freie Sporen, im übrigen wie nach 48 Std. *B. alvei*: Sporen gebildet. *B. pumilus*: reife Sporangien und freie Sporen in der Kultur gebildet. *B. ruminatus*: Sporen mit Hülle in Menge gebildet. *B. graveolens*: viele Sporangien und freie Sporen in der Kultur. *B. tumescens*: Reife Sporangien und wenig freie Sporen vorhanden. *B. sphaericus*: Viele Sporen. *B. silvaticus*: Dicke, gelbbraunliche Kolonie, die gutes Wachstum zeigt; viel Fett in den Fäden nachzuweisen, namentlich in den häufig vorkommenden Schwellformen. Es finden sich ziemlich viel reife Sporangien und einzelne freie Sporen in der Kultur. *B. Petasites*: Neben freien Sporen finden sich Schwellformen und geschwollene, rundliche Sporangien. *B. parvus*: Die Kolonie zeigt gesundes Aussehen, besteht aus Schwärmern, Sporangien, Sporen.

Nach 96 Std. *B. cohaerens*: Wachstum fast = 0; Stäbe meist mit körnigem Inhalt. *B. teres*: Der Belag ist zurückgegangen. *B. simplex*: keine Kolonie. *B. fusiformis*: dünne Kolonie aus Einzel- und Doppelstäben, Schwärmern. Volutin ziemlich viel vorhanden. *B. Megatherium*: Kolonie aus Stäben mit ziemlich wenig Fett, sonst wie nach 72 Std. *B. tumescens*: Neben Sporen und Sporangien finden sich Doppelstäbe und viele Schwellformen mit Fett. *B. silvaticus* zeigt starkes Wachstum mit Ausbildung von vielen Schwellformen; ferner reife Sporangien und nicht viele freie Sporen vorhanden. *B. Petasites*: ziemlich dicke, gelbweiße Kolonie aus Stäbchen, 4–6-stäbigen Fäden, ziemlich vielen normalen und geschwollenen Sporangien, freien Sporen und viel Schwellformen mit großen Fettkugeln. *B. parvus*: Stäbchen, Schwärmer, Sporangien und viel Sporen.

Nach 120 Std. *B. Ellenbachensis*: Befund wie nach 48 Std., vorwiegend tote und degenerierte Stäbe und Fadenstücke. *B. asterosporus*: Kolonie nicht gewachsen, wie nach 48 Std.; viele Morphoden degeneriert.

Nach 144 Std. *B. asterosporus*: Die Kolonie zeigt sich als sehr dünner, kränklicher Belag auf der Agarfläche. *B. fusiformis*: agarfarbene, dünne Kolonie: Stäbchen, Schwärmer, einige „Kugeln“. *B. Megatherium*: Kolonie aus Stäbchen bis 6-stäbigen Fäden, einzelne Stäbe mit körnigem Inhalt.

Nach 336 Std. *B. Ellenbachensis*: keine Kolonie, meist degenerierte Sporen, Stäbe, kein Wachstum. *B. teres*: keine Kolonie vorhanden. *B. asterosporus*: Der frühere dünne Belag ist stark zurückgegangen; mikroskopisch: sehr ungleich lange, unseptierte, meist degenerierte Stäbe; ziemlich viele degenerierte, ungekeimte Sporen. *B. fusiformis*: Agarfarbene, kränkliche Kolonie aus meist degenerierten Stäbchen; ferner mäßig viele lange unseptierte Stäbe; einige „Kugeln“. *B. Megatherium* zeigt Wachstum, jedoch tritt keine Sporenbildung ein.

b) Versuche bei 40° C mit Oidienmaterial. 15. Novbr. 1904 12 Uhr.

Befund nach 24 Std. *B. teres*: Es haben sich mehrere Punktkolonien gebildet. *B. Carotarium*: Es zeigen sich punktförmige Einzelkolonien, Stäbchen, Fäden. *B.*

**simplex:** es ist eine 2 mm breite Kolonie entstanden: Stäbchen und lange, vielstäbige Fäden.

**Nach 72 Std.** *B. teres*: dünner Belag, aus zum Teil degenerierten Stäben und Fäden: Wachstum mithin sehr schwach. *B. Carotarum*: Kolonien etwas gewachsen. *B. simplex*: Kolonie kaum gewachsen, Fäden, Stäbe oft mit körnigem Plasma.

**Nach 96 Std.** Befund wie bisher. *B. teres*: Belag geht zurück.

**Nach 264 Std.** *B. teres*: Kein Wachstum vorhanden. *B. Carotarum* zeigt langsames Oidienwachstum: Stäbchen, weniger längere, gestäbte Fäden, alle Morphoden sind glykogenhaltig, ebenso die nicht häufig vorkommenden Schwellformen. *B. simplex* zeigt mäßiges Wachstum: es sind mehrere kleine Einzelkolonien aus Stäbchen, längeren, oft unseptierten Fäden, zum Teil degeneriert, gebildet.

### Versuche mit allen Species bei 35° C.

#### a) Versuche mit Sporenmaterial. 15. Aug. 1904 12 Uhr.

**Befund nach 24 Std.** *B. cohaerens*: dünne, glasige, etwas schleimige Kolonie aus Einzel- und Doppelstäben, wenigen 4—5-stäbigen Zellfäden. *B. Ellenbachensis*: dünne, etwas glänzende Kolonie aus Stäbchen, 4—18-stäbigen Zellfäden mit Glykogen und Volutin. *B. teres*: dünne Kolonie aus Stäbchen, langen septierten Fäden mit wenig Glykogen. *B. Carotarum*: dünne, homogene, glasige, schwach glänzende Kolonie aus Stäbchen, 3-stäbigen Fäden aus Kurzstäbchen. *B. simplex* ziemlich dicke, rauhe, feingekörnt gelbweiße Kolonie aus Stäbchen, 2—6-stäbigen Zellfäden, einzelnen reifen Sporangien mit viel Glykogen. *B. asterosporus*: dünne agarfarbene Kolonie aus Stäbchen, 3-stäbigen Fäden. *B. fusiformis*: dünne agarfarbene Kolonie, nicht schleimig, aus reifen Sporangien, Sporen, Stäbchen. Die Stäbe und Sporangien enthalten ziemlich viel Volutin. Im Kondenswasser finden sich Schwärmer. *B. lactis*: dicke weiße Kolonie: sehr lange dicke Fäden, 4—10-stäbig, deren Stäbe sehr verschieden lang sind; ferner Stäbchen mit Sporenanlage und ziemlich viele reife Sporangien. Fett und Volutin wie bei der Kultur von 28° C. *B. lacticola*: etwas dünnere Kolonie aus Stäben, 4—8-stäbigen Fäden, reifen Sporangien mit reichlichen Reservestoffen. *B. alvei*: dünne glasige Kolonie aus reifen Sporangien mit Volutin, einzelnen freien Sporen, Schwärmern und Stäbchen. *B. Megatherium*: dicke Kolonie: meist stäbige Fäden, stark fetthaltig, reife Sporangien mit viel Fett, einzelne freie Sporen. *B. pumilus*: dünne, schwach glänzende, spiegelnde Kolonie aus Stäbchen, mehrlangen unseptierten Fäden, vereinzelt geschwollene Stäbe. *B. ruminatus*: dicke gelbweiße Kolonie vorwiegend aus Sporangien in Fäden, ferner einzelnen neugebildeten, freien Sporen, oft mit Hülle; außerdem finden sich Stäbchen. Die Kultur enthielt viel Fett. *B. graveolens*: dicke, häutige, dabei schwach feucht glänzende Kolonie: meist reife Sporangien, viel Sporen, reichlich fettführende Stäbchen. *B. tumescens*: dicke Kolonie, Stäbchen, Fäden, einzelne Sporangien. *B. sphaericus*: agarfarbene Kolonie, Schwärmer und viel reife Sporangien. *B. silvaticus*: dicke Kolonie, Stäbchen, stäbige Fäden, Sporangien mit viel Fett; ferner Schwellformen. *B. Petasites*: dicke, gelbweiße Kolonie aus vielen reifen Sporangien, freien Sporen, Stäben, 4—8-stäbigen Fäden. *B. parvus*: glasige, dünne, durchsichtige Kolonie, grauweiß, aus Einzel-Doppelstäben, ein- und zweizellig; ferner lebhafte Schwärmer. *B. subtilis*: mäßig dicke trockene Kolonie aus reifen Sporangien, freie Sporen (namentlich oben); in der Mitte der Kultur viele Schwärmer. *B. subtilis* α: Befund wie bei *subtilis*.

**Nach 48 Std.** *B. cohaerens*: dünne Kolonie aus Stäben, Fäden mit viel Glykogen. *B. teres*: wie nach 24 Std.; ferner reife Sporangien gebildet. *B. Carotarum*: dünne homogene, schwach glänzende Kolonie aus Stäbchen und Fäden mit mäßig viel Glykogen, dazwischen Schwellformen aller Art. Bei einem späteren gleichen Versuch mit älterem, trockenem 3 % D Agar fanden sich nach 48 Std. außer obigen Morphoden viele reife Sporangien und einzelne Sporen. *B. simplex*: wie nach 24 Std., doch mehr Sporangien. *B. asterosporus*: stark schleimige, durchscheinende dünne Kolonie vorwiegend aus Einzel-Doppelstäben mit viel Glykogen und mäßig viel Volutin und weniger 3—4-stäbigen Fäden. Bei einem späteren gleichen Versuch ließen sich nach 48 Std. einzelne bauchig geschwollene Sporangien mit Glykogen und wenig Volutin nachweisen. *B. fusiformis*: wie nach 24 Std., ferner viele Sporangien und Sporen gebildet. *B. lactis*: Einzel- und Fadensporangien und Sporen gebildet. *B. lacticola*: Sporangien und Sporen gebildet. *B. pumilus*: Kolonie aus Stäbchen, Oidien, mehrlangen, unseptierten Fäden, vereinzelt Schwellformen. *B. tumescens*: reife Sporangien, Sporen gebildet. *B. sphaericus*: viel Sporen, Sporangien; in der Mitte Schwärmer. *B. silvaticus*: viele Sporen gebildet. *B. parvus*: dünne Kolonie aus Einzel-Doppelstäbchen, Schwärmern, wenigen Sporangien, einzelnen geschwollenen Stäben.

**Nach 72 Std.** *B. cohaerens*: Kolonie mäßig dick, oft nicht normale Stäbchen vorhanden, zum Teil körnig, degeneriert; ferner Fäden und degenerierte Fadenstücke, kugelige und anders geformte Schwellformen mit Glykogen. Bei einem späteren Ver-

sich fand ich nach 72 Std.: neben obigen Morphoden einzelne reife Sporangien mit viel Glykogen. *B. teres*: dicke schwartige Kolonie: Stäbchen, viele reife Sporangien, Sporen. *B. simplex*: es sind ziemlich viele Sporangien und Sporen gebildet. *B. Carotarum*: oben reife Sporangien, einzelne Sporen; in der Mitte Stäbchen, 3—4-stäbige Fäden mit mäßig viel Glykogen, einzelne Schwellformen. *B. pumilus*: Die Kolonie besteht aus Stäbchen, vielen Sporangien, ziemlich viel freien Sporen. *B. parvus*: Im oberen Teil der Kolonie ziemlich wenig Sporen, mehr reife Sporangien gebildet; in der Mitte der Kultur: Stäbchen und Schwärmer.

Nach 96 Std. *B. cohaerens*: Befund wie nach 72 Std.; noch mehr Schwellformen. *B. Ellenbachensis*: Befund wie nach 24—48 Std., die Fäden sind oft in Stücke zerfallen und degeneriert. *B. asterosporus*: Stäbchen, 3-stäbige Zellfäden, reife Sporangien mit Glykogen und kleinen Volutinkugeln, freie Sporen. *B. parvus*: es finden sich viele Sporangien und Sporen.

Nach 120 Std. *B. cohaerens*: Die Kultur zeigt kränkliches Aussehen, Befund wie nach 96 Std.

Nach 264 Std. *B. cohaerens*: Die Kolonie ist etwas gewachsen, Befund wie nach 96 Std., viel Schwell- und Degenerationsformen, keine Sporangien und Sporen. *B. Ellenbachensis*: es zeigt sich nur eine dünne Kolonie, die viele degenerierte Morphoden enthält außer normalen Stäben und Fäden.

Besonders hervorzuheben ist das Verhalten der folgenden Species bei 35° C.

*B. cohaerens* bildet viel Schwellformen. *B. mycoides*, *robur*, *Planosarcina ureae* keimen nicht.

b) Versuch bei 35° C von Oidien ausgehend. 1. Juni 12 Uhr.

Befund nach 24 Std. *B. robur*: es hat sich eine ca. 2 mm große, glasig durchscheinende, grauweißliche Kolonie gebildet. Sie besteht aus Stäbchen, 3—10-stäbigen Fäden mit mäßig viel Fett, Glykogen und wenig Volutin.

Nach 48 Std. Kolonie wenig gewachsen, Befund wie nach 24 Std., ferner vereinzelt Stäbe mit Sporenanlage.

Nach 312 Std. *B. robur*: Kolonie ca. 4 mm groß, Befund wie oben, ferner viele degenerierte Fadenstücke. *B. mycoides* und *Planosarcina ureae* haben keinerlei Wachstum bei 35° gezeigt.

### Allgemeine Resultate, die sich aus meinen Versuchen bei den verschiedenen Temperaturen erschließen lassen:

Bezüglich der Reservestoffe läßt sich auf Grund meiner Erfahrungen sagen: Die Reservestoffe werden in größter Menge bei Kultivierung einer Species bei ihrem Optimum gespeichert. Je mehr die Temperatur sich dem Maximum der Species nähert, um so mehr nehmen die Reservestoffe an Menge ab, und zwar nehmen bei einer Species alle vorhandenen Reservestoffe, z. B. bei *B. robur* Volutin, Glykogen, Fett annähernd gleichmäßig ab. Wo bei einer Species Schwellformen vorkommen, finden sich diese in größter Menge beim Optimum, lassen sich jedoch z. B. bei *B. silvaticus* auch bis zu Temperaturen ziemlich weit oberhalb des Optimums verfolgen. Bezüglich der Fadenbildung und Septierung der verschiedenen Species oberhalb des Optimums bis zum Maximum habe ich nichts Auffallendes konstatieren können, wohl aber hat sich beim Kultivieren der von mir isolierten Species mit hohem Maximum beim Minimum gezeigt, daß bei diesem Kardinalpunkt die Septierung der gebildeten Fäden häufig unterblieb und Fadenbildung bei Species auftrat, die sonst dieses Verhalten nicht zeigten.

Die angestellten Versuche lehren uns weiter allgemein, daß unter den sporenbildenden Bodenbakterien solche vorkommen, deren Temperaturmaxima im allgemeinen zwischen 30—35° C und 75° C liegen. Daß wir solche mit niedrigerem Maximum nicht darunter fanden, liegt wohl daran, daß alle diese Species zwischen 15 und 60° C gefangen worden sind. Spätere Untersuchungen werden sicher solche Formen

finden lassen, die ein niedrigeres Maximum besitzen. Es wird sich auch die bei meinen Versuchen vorhandene Lücke zwischen 55 und 60 und 65 und 70° bald füllen lassen, wenn weitere Species untersucht werden. Die folgende Tabelle I gibt eine Zusammenstellung der Temperaturmaxima für alle untersuchten Species, auch für die mit höchsten Maxima:

Tabelle I  
der Temperaturmaxima aller bearbeiteten Species (ausgedrückt in Grad Celsius) für

	Sporenkeimung	Oidienwachstum	Sporenbildung
<i>B. mycoides</i>	30—35	30—35	30—35
„ <i>Planosarcina ureae</i>	30—35	30—35	30—35
„ <i>robur</i>	30—35	35—40	30—35
„ <i>cohaerens</i>	35—40	35—40	35—40
„ <i>Ellenbachensis</i>	35—40	35—40	35—40
„ <i>teres</i>	35—40	35—40	35—40
„ <i>Carotarum</i>	35—40	40—45	35—40
„ <i>simplex</i>	35—40	40—45	35—40
„ <i>asterosporus</i>	40—45	35—40	35—40
„ <i>fusiformis</i>	40—45	40—45	35—40
„ <i>lactis</i>	40—45	40—45	40—45
„ <i>lacticola</i>	40—45	40—45	40—45
„ <i>alvei</i>	40—45	45—50	45—50
„ <i>sphaericus</i>	45—50	40—45	40—45
„ <i>Megatherium</i>	45—50	45—50	35—40
„ <i>pumilus</i>	45—50	45—50	40—45
„ <i>ruminatus</i>	45—50	45—50	40—45
„ <i>graveolens</i>	45—50	45—50	40—45
„ <i>tumescens</i>	45—50	45—50	40—45
„ <i>silvaticus</i>	45—50	45—50	40—45
„ <i>Petasites</i>	45—50	45—50	45—50
„ <i>parvus</i>	50—55	50—55	45—50
„ <i>subtilis</i>	55—60	55—60	55—57
„ <i>subtilis a</i>	55—60	55—60	55—57
„ <i>robustus</i> <sup>1)</sup>	65—67	65—67	65—67
„ <i>calidus</i>	70—73	70—73	70—73
„ <i>cylindricus</i>	73—74	73—74	70—73
„ <i>tostus</i>	74—75	74—75	73—74

Interessant ist es, daß, wie die folgende Tabelle II zeigt, zwischen den Maxima der Sporenkeimung, des Oidienwachstums und der Sporenbildung meist keine völlige Uebereinstimmung besteht. Unter a der Tabelle II sind die Species zusammengestellt, welche gleiche Maxima haben, unter b die, welche ungleiche Maxima haben:

Tabelle II.

Temperaturmaxima aller Species (ausgedrückt in Grad Celsius).

a) Formen mit drei gleichen Maxima für

Sporenkeimung Oidienwachstum Sporenbildung

*B. mycoides*, *Planosarcina ureae*, *B. cohaerens*, *B. Ellenbachensis*, *B. teres*, *B. lactis*,  
*B. lacticola*, *B. Petasites*, *B. robustus*, *B. calidus*.

b) Formen mit ungleichen Maxima für

	Sporenkeimung	Oidienwachstum	Sporenbildung
<i>B. robur</i>	30—35	35—40	30—35
„ <i>Carotarum</i>	35—40	40—45	35—40
„ <i>simplex</i>	35—40	40—45	35—40
„ <i>asterosporus</i>	40—45	35—40	35—40
„ <i>fusiformis</i>	40—45	40—45	35—40
„ <i>alvei</i>	40—45	45—50	45—50

1) Die Untersuchungen über die Maxima der 4 letzten Species siehe weiter hinten.

	Sporenkeimung	Oidienwachstum	Sporenbildung
<i>B. sphaericus</i>	45—50	40—45	40—45
„ <i>Megatherium</i>	45—50	45—50	35—40
„ <i>pumilus</i>	45—50	45—50	40—45
„ <i>ruminatus</i>	45—50	45—50	40—45
„ <i>graveolens</i>	45—50	45—50	40—45
„ <i>tumescens</i>	45—50	45—50	40—45
„ <i>silvaticus</i>	45—50	45—50	40—45
„ <i>parvus</i>	50—55	50—55	45—50
„ <i>subtilis</i>	55—60	55—60	55—57
„ <i>subtilis a</i>	55—60	55—60	55—57
„ <i>cylindricus</i>	73—74	73—74	70—73
„ <i>tostus</i>	74—75	74—75	73—74

Tabelle III läßt die Beziehung zwischen den 3 Maxima genauer erkennen:

Tabelle III.

Maxim. d. Sporenkeim. höher als das des Oidiumwachst. u. d. Sporenbild.: <i>B. asterosperus</i> .	: Keine Species.
„ „ „ „ „ „ der Sporenbild.: <i>B. fusiformis, sphaericus, Megatherium, pumilus, ruminatus, graveolens, tumescens, silvaticus, parvus, subtilis, cylindricus, tostus</i> .	
Maxim. d. Sporenbild. höher als das des Oidiumwachst. u. d. Sporenkeim.: keine Species.	: keine Species.
„ „ „ „ „ „ der Sporenkeimung: <i>alvei</i> .	
„ des Oidiumwachst. höher als Sporenk. u. Sporenb.: <i>B. robur, Carotarum, simplex</i> .	
„ „ „ „ „ „ : <i>alvei</i> .	
„ <i>ruminatus, graveolens, tumescens, silvaticus, parvus, subtilis, cylindricus, tostus</i> .	

Im allgemeinen liegt das Maximum für Sporenkeimung und Oidienwachstum höher als das für Sporenbildung, wie aus obiger Tabelle zu ersehen ist. Auffallendes Verhalten zeigt *B. alvei*, da bei ihm das Maximum der Sporenbildung höher liegt, als das der Keimung.

Zur Feststellung der Optima der Species sind keine besonderen Versuche gemacht worden, doch wird es für eine genauere Untersuchung des Verhaltens dieser Species gegen verschiedene Temperaturen nicht ohne Interesse sein, wenn wir aus den älteren Angaben von Gottheil (1899) und Neide (1904) und meinen Erfahrungen Schlüsse über die ungefähre Lage des Optimums der Species ziehen.

Ich gebe deshalb erst die Tabelle nach Gottheil und Neide, neben welche ich die erschlossenen Optima stelle und lasse nach der Tabelle die Motive für die Schätzung der Optima noch besonders folgen:

Entwicklungsgang aller Species bei 28° C auf D Agar nach Gottheil und Neide.

	Sporenkeim. nach .. Std.	Koloniebild. be- ginnt nach .. Std.	Sporen vorh. nach .. Std.	Optima aller Species für 3 D Agar (° C)
<i>B. mycoides</i>	5	20—24	80	unterhalb 35
„ <i>Planosarcina ureae</i>	—	15—20	—	35
„ <i>robur</i>	5—6	14	48—60	zwischen 18 u. 28
„ <i>cohaerens</i>	5—6	18—24	72—168	28 „ 35
„ <i>Ellenbachensis</i>	5	15—20	80—90	unterhalb 35
„ <i>terres</i>	7	14—24	72—96	zwischen 28 u. 35
„ <i>Carotarum</i>	6	15—20	168—192	28 „ 35
„ <i>simplex</i>	6	24—54	72—96	28 „ 35
„ <i>asterosporus</i>	4—6	18—20	48—64	um 35
„ <i>fusiformis</i>	7—8	15—20	72—120	35
„ <i>lactis</i>	4	15	48	zwischen 35 u. 40
„ <i>lacticola</i>	7—8	14	48	35 „ 40

	Sporenkeim. nach .. Std.	Koloniebild. be- ginnt nach .. Std.	Sporen vorh. nach .. Std.	Optima aller Species für 3 D Agar (° C)
<i>B. alvei</i>	6—7	24	48—72	zwisch. 35 u. 40, näher 35
„ <i>Megatherium</i>	4—5	8—16	40	um 35
„ <i>pumilus</i>	5	24—72	168	zwischen 35 u. 40
„ <i>ruminatus</i>	5—6	18—24	38—40	zwisch. 35 u. 40, näher 35
„ <i>graveolens</i>	5—6	20—24	36—40	„ 35 „ 40, „ 35
„ <i>tumescens</i>	5	14—24	40—48	„ 28 „ 35
„ <i>sphaericus</i>	3—4	20—40—70	24—30—36	um 35
„ <i>silvaticus</i>	2—2 $\frac{1}{2}$	8—9—16	20—24—40	zwischen 35 u. 40
„ <i>Petasites</i>	4—5	15—20	36—40	um 35
„ <i>parvus</i>	5—6	20	50	zwischen 35 u. 40
„ <i>subtilis</i>	5—6	16—20	72—96	zwisch. 40 u. 45, näher 40
„ <i>subtilis</i> α	5—6	16—20	72—96	um 40

Optima der thermophilen Species:

<i>B. robustus</i>	zwischen 55 u. 60° ( $\frac{1}{3}$ D Agar)
„ <i>calidus</i>	„ 60 „ 65° ( $\frac{1}{3}$ D Agar)
„ <i>cylindricus</i>	„ 60 „ 70° ( $\frac{1}{3}$ D Agar)
„ <i>tostus</i>	„ 60 „ 70° ( $\frac{1}{3}$ D Agar alkalisch)

Temperaturoptima

der verschiedenen Species, soweit sie sich auf Grund der Befunde über Sporenkeimung, Wachstum, Sporenbildung, Reservestoffbildung etc. aus meinen Versuchen bei den verschiedenen Temperaturen ersehen lassen.

*B. mycoides*: Das Optimum liegt unterhalb 35° C, da die Species bei 35° C weder keimte noch wuchs.

*Planosarcina ureae*: Optimum unterhalb 35° C.

*B. robur*: Optimum unterhalb 35° C, dürfte zwischen Zimmertemperatur und 28° C liegen.

*B. cohaerens*: Optimum dürfte vielleicht zwischen 28° und 35° C liegen. Bei 28° C wurden in 3—6 Tagen Sporen gebildet, bei 35° nicht mehr, doch wächst die Species bei 35° noch ziemlich gut unter Bildung von viel Reservestoffen und Schwellformen.

*B. Ellenbachensis*: Optimum unterhalb 35° C.

*B. teres*: Optimum zwischen 28° und 35° C gelegen. Wachstum bei 35° gut, Sporenbildung nach 72 Std.

*B. Carotarum*: Optimum zwischen 28° und 35° C. Die Species beginnt schon nach 48 Std. bei 35° Sporangien bei gutem Wachstum der Kultur auszubilden.

*B. simplex*: Optimum zwischen 28° und 35°. Bei 35° beginnt die Sporangienbildung bei gutem Wachstum mit Speicherung von viel Reservestoffen schon nach 48 Std.

*B. asterosporus*: Optimum zwischen 35° bis 28°, näher 35°. Bei 35° Wachstum gut, viel Reservestoffe, Sporenbildung schon nach 24—48 Std. gesehen.

*B. fusiformis*: Optimum um 35° C herum. Gutes Wachstum mit Sporenbildung nach 24 Std.

*B. lactis*: Optimum zwischen 35—40° C. Gutes Wachstum, viel Reservestoffe, Sporenbildung bei 40° nach 48 Std., bei 35° nach 24—48 Std. beobachtet.

*B. lacticola*: Optimum zwischen 35—40° C.

*B. alvei*: Optimum zwischen 35—40°. Wachstum gut mit viel Reservestoffen. Sporenbildung bei 40° nach 24—48 Std., bei 35° nach 24 Std.

*B. Megatherium*: Optimum um 35° herum. Sehr gutes Wachstum mit Fettspeicherung, Sporenbildung schon nach 24 Std.

*B. pumilus*: Optimum zwischen 35° und 40° C. Dasselbe gutes Wachstum und Sporenbildung nach 72 Std.

*B. ruminatus*: Optimum zwischen 35° und 40° C, näher an 35°. Sporenbildung, sehr gutes Wachstum mit starker Fettspeicherung innerhalb 24 Std.

*B. graveolens*: Optimum zwischen 35° und 40° C, um 35° herum. Sporenkeimung, sehr gutes Wachstum, Sporenbildung in 24 Std.

*B. tumescens*: Optimum zwischen 28° und 35° C, dicht um 35° herum. Sehr gutes Wachstum, Sporenbildung in 24—48 Std.

*B. sphaericus*: Optimum um 35° C herum. Gutes Wachstum und Sporenbildung in 24—48 Std.

*B. silvaticus*: Optimum zwischen 35° und 40° C. Bei beiden Temperaturen gutes Wachstum mit Fettspeicherung innerhalb 24 Std. und Sporenbildung beginnt nach 24 Std.

*B. Petasites*: Optimum dicht um 35° C herum. Keimung, sehr gutes Wachstum, Sporenbildung in 24 Std.

*B. parvus*: Optimum zwischen 35° und 40° C. Keimung, gutes Wachstum, Sporenbildung innerhalb 48 Std.

*B. subtilis*: Optimum zwischen 40° und 45° C, näher an 40°. Sporenbildung bei sehr gutem Wachstum innerhalb 24 Std.

*B. subtilis* α: Optimum um 40° C herum gelegen.

*B. robustus*: Optimum auf  $\frac{1}{8}$  D Agar bei 55–60° C. Bildet daselbst in 9 Std. Sporangien und viel Glykogen, in 14 Std. Sporen.

*B. calidus*: Optimum auf 3 D Agar bei 60–65° C. Gutes Wachstum und Sporenbildung in 14 Std.

*B. cylindricus*: Optimum zwischen 60° und 70° C, daselbst Sporenbildung innerhalb 18–20 Std.

*B. tostus*: Optimum zwischen 60° und 70° C. Daselbst Sporenbildung innerhalb 18–20 Std.

### Die Tötungszeiten der Sporen der folgenden Bakterienspecies bei den supramaximalen Temperaturen von 100° C und 80° C.

*B. mycoides*, *Planosarcina ureae*, *B. robur*, *B. cohaerens*, *Ellenbachensis*, *teres*, *Carotarum*, *simplex*, *asterosporus*, *fusiformis*, *lactis*, *lacticola*, *alvei*, *sphaericus*, *Megatherium*, *pumilus*, *ruminatus*, *graveolens*, *tumescens*, *silvaticus*, *Petasites*, *parvus*, *subtilis*, *robustus*, *calidus*, *cylindricus*, *tostus*.

Außer den drei Kardinalpunkten der Temperatur ist die Tötungszeit der Sporen, wie Herr Professor Meyer in seinem Praktikum p. 127 auseinandergesetzt hat, von Bedeutung für die Charakterisierung der Bakterienspecies. Schon aus diesem Grunde erschien es ihm als zweckmäßig, obige, in seinem Institute bearbeiteten sporenbildenden Bakterienspecies einer nochmaligen genauen Prüfung in dieser Beziehung unterwerfen zu lassen. Ellis (Arthur Meyer 1903. p. 131) hatte zwar schon für eine Reihe der Species die Tötungszeit der Sporen annähernd festgestellt, jedoch waren die Resultate noch nicht sicher genug.

Die Festlegung des Ultramaximum für die Species ist nicht versucht worden. Herr Prof. Meyer ist der Meinung, daß sich dieser Kardinalpunkt theoretisch und praktisch nur relativ schwierig und unsicher feststellen lasse. Als Ultramaximum hat Engelmann den Temperaturgrad bezeichnet, bei welchem der Protoplast „momentan“ stirbt; wir konnten jedoch in der Tat statt momentan nur sagen „in einer für uns praktisch nicht mehr meßbaren kleinen Zeit“. Immerhin ließen die gefundenen Tötungszeiten der verschiedenen Species erkennen, daß auch die Ultramaxima der Species sehr verschieden liegen müßten. Es scheine nämlich Herrn Prof. Meyer nach den vorliegenden Daten fast, als nähmen die Tötungsgeschwindigkeiten annähernd nach geometrischen Progressionen mit der Temperatur zu, so daß sich aus den unten mitgeteilten Tötungszeiten bei 100° und 80° das Ultramaximum für jede Specie annähernd berechnen lassen würde. Darüber wird Herr Prof. Meyer später noch nähere Mitteilungen machen.

In der Literatur finden sich wenig Angaben über die supramaximalen Tötungszeiten. Es ist dies leicht begreiflich, weil von pathogenen Bakterien nur wenige sporenbildend sind und von sporenbildenden Bakterien außer *B. Anthracis*, *tetani*, *sarcophysematos*, *bovis* und *subtilis* kaum eine Species so genau beschrieben ist, daß man sie wiedererkennen kann.

Dagegen finden sich einige allgemeine Angaben über das Verhalten von „Bodenbakterien“ etc.

Im folgenden möge ein Auszug aus der Literatur gegeben sein über Tötungszeiten von Sporen für Erhitzung in Flüssigkeit oder strömendem Dampf.



Es werden getötet bei 100° C die Sporen von:

*B. Anthracis* in 5 Minuten (Esmarch. 1888. p. 200).

*B. Tetani* in 5 Minuten (Kitasato, Zeitschr. f. Hyg. Bd. VII. p. 41).

*B. sarcophysematos bovis* in 5—10 Minuten (Kolle und Wassermann. Bd. II. p. 614).

Sporen der „thermophilen Species“ von L. Rabinowitsch (1895. p. 154), nach 6-stündiger Dampfeinwirkung noch nicht.

Sporen des „roten Kartoffelbacillus“ nach 6 Stunden (Globig. 1888. p. 197).

Sporen der „Thermophilen“ von Sames (1900. p. 315) zwischen 2 und 10 Stunden.

Bodenbakteriensporen in 16 Stunden noch nicht (Christen, Mitteilungen aus den Kliniken des med. Institut. der Schweiz. 1895).

Bei 80° werden getötet die Sporen von:

*B. botulinus* nach 1 Stunde (Kolle und Wassermann. Bd. II. 1903. p. 672).

*B. tetani* nach 1 Stunde (Günther. 1898. p. 323).

Zur Bestimmung der Tötungszeit wurde die Methode benutzt, welche Herr Prof. Meyer in seinem Praktikum 1903 p. 128 beschrieben hat; dabei wurden die Bemerkungen von Neide über diese Methoden (1904. p. 2) berücksichtigt. Es ist zu betonen, daß das Erhitzen des Sporenmaterials stets in reinem Wasser geschehen ist, da selbstverständlich Beimischung von Säuren, Basen etc. die Tötungszeit beeinflussen müssen. Es ist nicht zu verwundern, daß, wie Behrens 1904. p. 35 mitteilt, gefunden wurde, daß Sporen in Mohrrübensdekot schneller getötet wurden als in Wasser. Ellis hat früher im hiesigen Institute Versuche angestellt, inwieweit die Sporentötungszeit bei 100° der Species *B. asterosporus* von der Flüssigkeit, in der die Tötung erfolgt, abhängig ist. Seine Versuche zeigten, daß die Sporentötungszeit konstant blieb, gleichviel ob er Nährlösung I (Praktikum. 1903. p. 24) oder reines Wasser anwandte. Ich selbst verglich die Tötungszeit verschiedener Sporenarten in Nährlösung I mit der in Wasser und fand keinen wesentlichen Unterschied.

Nach Neide (1903. p. 2) scheint bei *B. lactis* und *B. lacticola* das Alter der Sporen von Einfluß auf die Tötungszeit zu sein, während bei *B. sphaericus* und *alvei* kein Einfluß des Alters der Sporen bemerkt werden konnte. Die beiden folgenden Versuche bestätigten die Angaben von Neide über *B. lactis* und *sphaericus*:

100°. *B. lactis* Sporenmaterial 14 Tage alt I. (+ bedeutet Wachstum, — kein Wachstum, hier, wie bei allen späteren Versuchen). 1) 6'+12'+18'—. 2) 12'+13'+14'—15'—17—. Sporen 8 Wochen alt: 1) 20'+30'+40'+50'+60'—. 2) 53'+56'+59'—. Bei I liegt das Sporentötungsmaximum zwischen 13 und 14', bei II zwischen 56 und 59'.

100°. *B. sphaericus*. I. 14-tägiges Material 4'+6'+8'—. II. Sporen 8 Wochen alt. 1) 4'+6'+8'+10'—. 2) 8'+9'—10'—. Bei I liegt also das Maximum zwischen 6 und 8', bei II zwischen 8 und 9'.

Es schien mir übrigens, als sei das Austrocknen der Agarfläche der Reagensröhrchen, auf welcher die Sporen aufbewahrt waren, nicht ganz ohne Einfluß auf die Tötungszeit der Sporen. Material von stark ausgetrockneten Kulturen schien etwas widerstandsfähiger zu sein. Genauere Versuche über diesen Punkt habe ich nicht angestellt.

Ich benutzte stets 5—6 Wochen altes Sporenmaterial (wie Neide), welches auf Agar + Dextrose bei 28° erwachsen war zur Bestimmung der Tötungszeit. Ellis hatte bei seinen Versuchen 1—4 Wochen altes Sporenmaterial benutzt.

Ich prüfte zunächst die von Ellis (Meyer Praktikum p. 131) und Neide (1904. Dissertation) angestellten Versuche über Sporentötungen nach und stellte die noch nicht untersuchten Tötungszeiten bei 80° C für die Species *B. ruminatus*, *Megatherium*, *robur*, *silvaticus*, *teres*, *lacticola*, *lactis*, *parvus*, *sphaericus*, *alvei*, *Petasites* und diejenigen bei 100° für *B. Petasites*, *robustus*, *calidus*, *cylindricus* und *tostus* fest.

## Versuche.

<b>B. mycoides</b>	100°.	1) 4' + 6' + 8'—.	2) 6' + 7' + 8' + 9' + 10'—.	3) 6' + 7' + 8'—9'—10'—.
	80°.	1) 3 <sup>b</sup> + 6 + 9—.	2) 6 + 7 + 8—.	3) 6 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 8 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —9 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —10—.
	100°.	Tötungszeit: Maximum 9—10', Minimum 7—8'.		
	80°.	7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —8 <sup>b</sup> , 7—8 <sup>b</sup> .		
<b>B. robur</b>	100°.	1) 25'' + 30' + 35'—40'—.	2) 25' + 30'' + 33'—35'—.	3) 28' + 30' + 32' + 34' + 35'—36'—.
	80°.	1) 5 <sup>b</sup> + 10 + 15 + 25 + 30—.	2) 25 + 26 + 27—.	3) 25 + 26—27—.
	100°.	Tötungszeit: Maximum 34—35', Minimum 32—33'.		
	80°.	26—27 <sup>b</sup> , 25—26 <sup>b</sup> .		
<b>B. cohaerens</b>	100°.	1) 4' + 4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 5—5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—.	2) 4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 5' + 5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—.	
	80°.	1) 7 <sup>b</sup> + 7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 8 + 8 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —.	2) 7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 8 + 8 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —9—.	
	100°.	Tötungszeit: Maximum 5—5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ', Minimum 4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —5'.		
	80°.	8—8 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> <sup>b</sup> .		
<b>B. Ellenbach.</b>	100°.	1) 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 1' + 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 2'—.	2) 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 1' + 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 2' + 2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—.	3) 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 1' + 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 2'—2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—.
	80°.	5 <sup>b</sup> + 5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 6 + 6 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 7 + 7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —.		
	100°.	Tötungszeit: Maximum 2—2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ', Minimum 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —2'.		
	80°.	7—7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> <sup>b</sup> .		
<b>B. teres</b>	100°.	1) 10'' + 11' + 12' + 13' + 14' + 15'—.	2) 12' + 13'—14'—15'—.	3) 12' + 13' + 14'—15'—.
	80°.	1) 12 <sup>b</sup> + 13 + 14 + 15 + 16—.	2) 12 + 13 + 14 + 15—.	3) 12 + 13 + 14 + 15—16—.
	100°.	Tötungszeit: Maximum 14—15', Minimum 12—13'.		
	80°.	14—16 <sup>b</sup> , Maximum 15—16 <sup>b</sup> , Minimum 14—15 <sup>b</sup> .		
<b>B. Carotarum</b>	100°.	1) 3' + 3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 4' + 4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 5' + 5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—6'—.	2) 4' + 4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 5' + 5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 6'—.	
	80°.	1) 6 <sup>b</sup> + 7 + 8 + 9—10—.	2) 8 + 8 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 9 + 9 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 10—.	3) 8 + 8 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 9—9 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —10—.
	100°.	Tötungszeit: Maximum 5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —6', Minimum 5—5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '.		
	80°.	8 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —10 <sup>b</sup> , Maximum 9 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —10 <sup>b</sup> , Minimum 8 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —9 <sup>b</sup> .		
<b>B. simplex</b>	100°.	1) 2' + 2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 3' + 3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 4'—.	2) 3' + 3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 4'—.	
	80°.	1) 2 <sup>b</sup> + 2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 3—3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —.	2) 2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 3—.	
	100°.	Tötungszeit: 3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —4'.		
	80°.	2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —3 <sup>b</sup> .		
<b>B. asterosporus</b>	100°.	1) 5' + 5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 6 + 6 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 7' + 7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—.		
	80°.	1) 3 <sup>b</sup> + 4 + 5—6—.	2) 3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 4 + 4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 5—.	
	100°.	Tötungszeit: 7—7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '.		
	80°.	4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —5 <sup>b</sup> .		
<b>B. fusiformis</b>	100°.	1) 2' + 3' + 4' + 5'—.	2) 3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ' + 4' + 4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—5'—.	
	80°.	1) 6 <sup>b</sup> + 7 + 8 + 9 + 10 + 11—.	2) 9 + 9 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> + 10 + 10 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —11—.	
	100°.	Tötungszeit: 4—4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '.		
	80°.	10—10 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> <sup>b</sup> .		
<b>B. lactis</b>	100°.	1) 20'' + 30' + 40'—.	2) 30' + 35'—40'—.	3) 30' + 32' + 34' + 36'—.
		4) 30' + 32'—34'—36'—.		
	80°.	1) 20 <sup>b</sup> + 25 + 30—.	2) 25 + 27 + 29 + 31—.	3) 25 + 26—27—28—.
	100°.	Tötungszeit: Maximum 34—35', Minimum 30—32'.		
	80°.	29—30 <sup>b</sup> , 25—26 <sup>b</sup> .		
<b>B. lacticola</b>	100°.	1) 15'' + 20'—25'—30'—.	2) 15' + 16' + 17' + 18' + 19' + 20'—.	3) 12' + 14' + 16'—18'—20'—.
	80°.	1) 10 <sup>b</sup> + 15 + 20—.	2) 10 + 13 + 16—.	3) 10 + 12 + 14—16—.
	100°.	Tötungszeit: Maximum 19—20', Minimum 15—16'.		
	80°.	15—16 <sup>b</sup> , 13—14 <sup>b</sup> .		

<b>B. alvei</b>	100°. 1) 6'+8'+10'+12'—.	2) 9'+10'+11'—12'—.	3) 9'+10'+11'+12'—.
	80°. 1) 5 <sup>b</sup> +7+9+11—.	2) 9+10—11—.	3) 9+10+11—.
	100°. Tötungszeit: Maximum 11—12', Minimum 10—11'.		
	80°. 1) 6'+8'+10'—12'—.	2) 6'+8'—10'—.	3) 6'+7'+8'—9'—.
<b>B. sphaericus</b>	100°. 1) 4 <sup>b</sup> +6+8+10—.	2) 6+7+8+9+10—.	3) 6+7+8—9—10—.
	80°. Tötungszeit: Maximum 8—9', Minimum 7—8'.		
	100°. 1) 10'+12'+14'+16'—18'—20'—.	2) 12'+13'+14'—15'—16'—.	3) 12'+13'+14'+15'+16—.
<b>B. Megather.</b>	80°. 1) 10 <sup>b</sup> +15+20—.	2) 15+16+17—.	3) 15+16—17—18—.
	100°. Tötungszeit: Maximum 15—16', Minimum 13—14'.		
	80°. 1) 5'+6'+7'+8'—.	2) 6'+6 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '+7'+7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—.	3) 6'+6 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '+7'—7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—8'—.
<b>B. pumilus</b>	100°. 1) 5 <sup>b</sup> +6+7+8—.	2) 6 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> +7+7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —8—.	
	80°. Tötungszeit: 6 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '.		
	100°. 1) 2'+4'+6'—8'—.	2) 3'+4'+5'—6'—.	3) 3'+3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—4'—4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—.
<b>B. ruminatus</b>	80°. 1) 2 <sup>b</sup> +4+6+8+10—.	2) 8+9—10—.	3) 8+9+10—.
	100°. Tötungszeit: Maximum 4—5', Minimum 3—3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '.		
	80°. 1) 7'+8'+9'+10'—11'—.	2) 9'+10'+10 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—11—.	
<b>B. graveolens</b>	100°. 1) 6 <sup>b</sup> +8+10+12—.	2) 8+10+11—12—.	3) 10+11—12—.
	80°. Tötungszeit: Maximum 10—10 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ', Minimum 9—10'.		
	100°. 1) 2'+4'+6'—8'—.	2) 4'+4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—5'—5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '—6'—.	
<b>B. tumescens</b>	80°. 1) 2 <sup>b</sup> +4+6—8—.	2) 4+5+6—.	
	100°. Tötungszeit: Maximum 4—4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '.		
	80°. 1) 10'+15'+20'—25'—.	2) 15'+16'+17'+18'—19'—20'—.	3) 15'+16'—18'—20'—.
<b>B. silvaticus</b>	100°. 1) 10 <sup>b</sup> +15+20—.	2) 12+14+16—.	3) 12+13+14+15—16—18—.
	80°. Tötungszeit: Maximum 17—18', Minimum 15—16'.		
	100°. 1) 2'+4'+6'+8'—.	2) 5'+6'+7'—8'—.	
<b>B. Petasites</b>	80°. 1) 2 <sup>b</sup> +4+6—8—.	2) 4+5+6+7+8—.	3) 5+6+7—.
	100°. Tötungszeit: Maximum 6—7'.		
	80°. 1) 10'+12'—14'—16'—.	2) 10'+11'+12'+13'+14'+15'—16'—.	
<b>B. parvus</b>	100°. 1) 10 <sup>b</sup> +15+20—.	2) 15+16+17+18+19+20—21—.	3) 15+16—17—18—.
	80°. Tötungszeit: Maximum 14—15', Minimum 11—12'.		
	100°. 1) 120'+180'—200'—.	2) 120'+135'+150'+165+180'—.	3) 150'+165'+175'+.
<b>B. subtilis</b>	80°. 1) 24 <sup>b</sup> +48+72+75—.	2) 65+67—70—.	3) 65+68+71+74+.
	100°. Tötungszeit: Maximum 175—180', Minimum 150—155'.		
	80°. 1) 2 <sup>b</sup> +3+4+5+.	2) 6+7+8—9—.	3) 6+6 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> +7+7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> +8—.
<b>B. robustus</b>	100°. Sporentötung: 7—8 <sup>b</sup> , Maximum 7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —8 <sup>b</sup> , Minimum 7—7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '.		
<b>B. calidus</b>	100°. 1) 2 <sup>b</sup> +4+6+8—.	2) 6+7+8—.	3) 6+6 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> +7+7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> +8—.
	80°. Sporentötung: Maximum 7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —8 <sup>b</sup> , Minimum 7—7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> '.		
<b>B. cylindricus</b>	100°. 1) 2 <sup>b</sup> +4+6+8+10+.	2) 10+11+12+.	3) 12+13+14+15+16+17+18+19+20—.
	80°. Sporentötung: 19—20 <sup>b</sup> , Maximum 19—20 <sup>b</sup> .		
<b>B. testus</b>	100°. 1) 2 <sup>b</sup> +4+6+8+10+.	2) 10+11—12+.	3) 12+13+14+15+16+17+18+19+20—.
	100°. Sporentötung: Maximum 19—20 <sup>b</sup> .		

In der folgenden Tabelle habe ich die maximalen Tötungszeiten nach Ellis, Neide und nach meinen Versuchen für 100° und 80° C

zusammengestellt und auch meine Resultate für die vier Species mit hoher Tötungszeit bei 100° *B. robustus*, *calidus*, *cylindricus*, *tostus* hinzugefügt.

Tabelle über die maximalen Sporentötungszeiten.

Species	Ellis <sup>1)</sup>		Neide (1903)		Meine Resultate		Verhältnis- zahl zwischen Zeit bei 100° und der bei 80°, nach dem Mittel aus den beiden Zahlen	60° auf 3 D Agar Std.
	100°	80°	100°	80°	100°	80°		
	Min.	Std.	Min.	Std.	Min.	Std.		
<i>B. mycoides</i>	10	8—8½	—	—	9—10	7½—8	1:49	
<i>Planosarcina ureae</i>	3—3½	1,75—2	—	—	—	—	1:35	
<i>B. robur</i>	—	—	38	—	34—35	25—27	1:45	
„ <i>cohaerens</i>	4,5—5	8—8½	—	—	5—5½	8—8½	1:94	
„ <i>Ellenbachensis</i>	1—2	7—7½	—	—	2—2½	7—7½	1:200	
„ <i>teres</i>	—	—	16	—	14—15	15—16	1:64	
„ <i>Carotarum</i>	4½—5½	6—6½	—	—	5½—6	9½—10	1:102	
„ <i>simplex</i>	3—4	2⅔—2⅝	—	—	3½—4	2¾—3	1:46	
„ <i>asterosporus</i>	7—7½	4½—4¾	—	—	7—7½	4½—5	1:39	
„ <i>fusiformis</i>	3—4	9—9½	—	—	4—4½	10—10½	1:147	
„ <i>lactis</i>	—	—	40	—	34—35	29—30	1:50	
„ <i>lacticola</i>	—	—	18	—	19—20	15—16	1:48	
„ <i>alvei</i>	—	—	12	—	11—12	10—11	1:55	
„ <i>sphaericus</i>	—	—	8	—	8—9	9—10	1:67	
„ <i>Megatherium</i>	—	—	15	—	15—16	16—17	1:64	
„ <i>pumilus</i>	6—7	7—7½	—	—	6½—7½	7—7½	1:62	
„ <i>ruminatus</i>	1,75—2	—	—	—	4—5	9—10	1:127	168—192
„ <i>graveolens</i>	7—10	9½—10	—	—	10—10½	10—11	1:61	
„ <i>tumescens</i>	4—5	5—5½	—	—	4—4½	5—6	1:78	
„ <i>silvaticus</i>	—	—	20	—	17—18	15—16	1:53	
„ <i>Petasites</i>	—	—	—	—	6—7	7—8	1:69	
„ <i>parvus</i>	—	—	14	—	14—15	19—20	1:79	
„ <i>subtilis</i>	150—180	45—70	—	—	175—180	74—75	1:25	528—552
„ <i>robustus</i>	—	—	—	—	450—480	—	—	
„ <i>calidus</i>	—	—	—	—	450—480	—	—	
„ <i>cylindricus</i>	—	—	—	—	1140—1200	—	—	
„ <i>tostus</i>	—	—	—	—	1140—1200	—	—	

Mit *B. ruminatus* und *B. subtilis* stellte ich Sporentötungsversuche bei 60° C an.

Ich verfuhr dabei in folgender Weise: Eine halbe Minute abgekochtes, 5—6 Wochen altes Sporenmaterial dieser beiden Species wurde auf 3 % D Agar (3 Oesen voll) in einen Thermostaten von 60° C verbracht. Von solchen Kulturen wurde je eine nach bestimmten Zeiträumen aus dem Thermostaten entnommen, in einen Thermostaten von 28° C verbracht und bezüglich Sporenkeimung und Wachstum beobachtet.

*B. ruminatus*, 60° C. + bedeutet Wachstum nach dem Verbringen von 60° auf 28° C.

1) 10 Std. bei 60° C, dann auf 28° gab: nach 14 Std. +, 18+22+24+26+30+35+40+44+48+72+96+120+144+168—. 2) 120+144+168—. 3) 120+144+168+192—.

Maximum der Tötungszeit für *B. ruminatus* auf 3 D Agar 168—192 Std.

1) Ellis, nach den Angaben in Arthur Meyer, 1903. Nur *Planosarcina ureae*. Ellis, 1903. p. 4. Die Versuche von Ellis waren nur Vorversuche, deshalb die Differenzen.

**B. subtilis, 60° C.** 72 Std. bei 60° C, dann bei 28° gab: nach 80 Std. + 90 + 96 + 120 + 144 + 168 + 192 + 216 + 240 + 264 + 288 + 312 + 336 + 360 + 384 + 408 + 432 + 456 + 480 + 504 + 528 + 552—.

Das Maximum der Sporentötungszeit für *B. subtilis* bei 60° auf 3 D Agar liegt zwischen 528 und 552 Std.

Für die von mir untersuchten Bodenbakterien liegt die Tötungszeit für Sporen bei 100° C innerhalb 2,5 Min. und 20 Std., bei 80° zwischen 3 Std. und 75 Std. (Bei den hochmaximalen Species würde die Sporentötungszeit bei 80° wahrscheinlich sehr hoch sein, vielleicht bis ca. 500 Std. oder mehr.) Eine höchst auffallende Tatsache ist es, daß die Sporen verschiedener Species mit annähernd gleichem Maximum so verschieden widerstandsfähig gegen höhere Temperaturen sind.

Man sollte denken, daß diejenigen Species, welche relativ niedrige Wachstumsmaxima besitzen, relativ kurze Sporentötungszeit haben würden. Das trifft merkwürdigerweise durchaus nicht zu. Eine maximale Tötungszeit von 35 Min. zeigt *B. robur* bei einem Wachstumsmaximum von 35—40° C, ebenso *lactis* 34—35 Min. Tötungszeit und 40—45° C Wachstumsmaximum. *Ellenbachensis* mit 2½ Min. hat 35—40°, ebenso *B. asterosporus* 4½ Min. zu 35—40°, *tumescens* 4½ Minuten zu 45—50°. Nur bei denjenigen Species, deren Wachstumsmaximum bei ungefähr 60° und höher liegt, scheinen die Tötungszeiten plötzlich stark zu steigen.

Es fragt sich nun, ob zwischen den Tötungszeiten für 80° und 100° leicht erkennbare Zahlenverhältnisse statthaben. Auffallend ist es, daß für eine ganze Reihe von Species das Verhältnis zwischen der Tötungszeit bei 100° und 80° ungefähr 1:56 ist. Diese Species sind: *B. mycoides*, *robur*, *teres*, *simplex*, *lacticola*, *alvei*, *sphaericus*, *Megatherium*, *pumilus*, *asterosporus*, *graveolens*, *silvaticus*, *Petasites*. Ihre Wachstumsmaxima liegen dabei zwischen 35° und 55°; Species, deren Wachstumsmaxima in denselben Grenzen schwanken, zeigen dagegen von diesen ganz abweichende Verhältnisse. So sind z. B. die Verhältniszahlen viel kleiner für *B. asterosporus*: 1:39, *subtilis* 1:25, *Planosarcina ureae* 1:35, und viel größer für *B. cohaerens* 1:94, *Ellenbachensis* 1:200, *fusiformis* 1:147, *Carotarium* 1:102, *ruminatus* 1:127, *parvus* 1:79. Hier scheint es allerdings, als entspräche einem niedrigen Keimungsmaximum eine hohe Verhältniszahl, doch ist darauf, nach dem Vorhergesagten, wohl wenig Wert zu legen.

Zuletzt wäre noch das Verhältnis zwischen der Tötungszeit bei 100° und 60° zu betrachten.

Die Versuche mit *B. ruminatus* und *subtilis* ergaben folgende Zahlen:

<b>B. ruminatus.</b>		
100°	80°	60°
4—5 Min.	9—10 Std.	168—192 Std.
Verhältnis	1	18
1	127	
1		2333
<b>B. subtilis.</b>		
100°	80°	60°
175—180 Min.	74—75 Std.	528—552 Std.
Verhältnis	1	7,3
1	25	
1		184

Also auch hier ist das Verhältnis zwischen den Tötungszeiten bei 80° und 60° ein recht verschiedenes, nämlich 1:18 und 1:7,3.

Herr Prof. Meyer hatte, wie schon früher angedeutet, bei Stellung des Themas auch die Frage im Auge, ob sich aus den Zahlenverhältnissen der Tötungszeiten der verschiedenen Sporenspecies bei 100° und bei 80° vielleicht eine Gesetzmäßigkeit herauslesen ließe. Vorzüglich wollte er darüber klar werden, wie sich die Vergrößerung der Tötungsgeschwindigkeit bei steigenden Temperaturen zu den Vergrößerungen der Reaktionsgeschwindigkeiten bei chemischen Prozessen zahlenmäßig verhalte. Er weist darauf hin, daß eine Erhöhung der Temperatur um 10° bei chemischen Reaktionen ungefähr eine Verdoppelung der Reaktionsgeschwindigkeiten bewirke, genauer, daß dann, wenn der ursprüngliche Wert der Reaktionsgeschwindigkeit bei 100° C = 1 wäre, er bei 80° C etwa  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{9}$  betragen würde. Er meint, es sei anzunehmen, daß die Steigerung der Tötungsgeschwindigkeit mindestens so groß sein müsse, wenn das Leben eng mit chemischen Reaktionen zusammenhinge, daß aber von vornherein anzunehmen sei, daß sie größer sei, da ja noch andere Faktoren, wie Beschleunigung und Entstehung von Autokatalysatoren, die Koagulation von bestimmten Bestandteilen der Zellen etc., bei der Bewirkung des Resultates im Spiele sein werden.

In der Tat zeigt es sich, daß selbst das kleinste der beobachteten Zahlenverhältnisse 1:25 (*B. subtilis*) größer ist als die aus der Erfahrung über die Beschleunigung der Reaktionsgeschwindigkeiten abzuleitenden, da letztere nur 1:4 bis 1:9 betragen. Prof. Meyer meint, daß vielleicht bei niedrigeren Temperaturen die Beschleunigung der Reaktionsgeschwindigkeit eine größere Rolle unter den Faktoren spiele, welche die Tötungsgeschwindigkeit bedingen, denn bei *B. ruminatus* beträgt das Verhältnis bei 80° und 60° 1:18, bei *B. subtilis* 1:7,3.

#### Untersuchungen über 4 Species, deren Temperaturminima relativ hoch liegen.

Ehe ich mich der Beschreibung der von mir untersuchten Species mit hohen Minima und Maxima für Sporenkeimung, Wachstum und Sporenbildung zuwende, will ich im folgenden eine Literaturübersicht über Species mit hohen Minima und Maxima, sogenannte „thermophile Bakterien“ geben:

Wir finden mehr oder weniger eingehende Untersuchungen über „thermophile Bakterien“ bei: Van Tieghem (1881. p. 35), welcher einen bei 74° C isolierten *Micrococcus* und einen bei derselben hohen Temperatur kultivierten *Bacillus*, welcher in Bouillonkultur in 2 Tagen Sporen bildet, beschreibt. Miquel (1888. p. 4—10) fand schon 1880 einen Spaltpilz, der Fadenbildung und Stäbchen aufwies, dessen Minimum über 40° C lag, dessen Maximum bei 70° C lag, Optimum zwischen 50 und 60°. Sporenbildung erfolgte zwischen 45° und 60° C. Globig (1888. p. 294) zog auf Kartoffeln bei 58° C aus Erde 30 Spaltpilzarten, wovon 28 Stäbchenformen waren, die zum Teil auch Fadenbildung zeigten; nur einige bildeten Sporen (in 24 Std.). Globig setzte nun die gefundenen Bakterien verschiedenen Temperaturen aus und fand dabei unter anderem einen Spaltpilz, dessen Optimum bei 60° lag, dessen Minimum bei 15° C, dessen Maximum bei 68° lag. Im allgemeinen lag das Minimum der gefundenen Sorten bei 40°, das Maximum bei 65°—70° C. Die Sporen des „roten Kartoffelbacillus“ (Globig 1888.

p. 322) werden in Dampf von 100° nach 6 Std. abgetötet. Macfadyen und Blaxall (1894. p. 644) fanden das Minimum einer Spaltpilzsorte bei 40° C, die mehrerer anderen bei 50° C, auf verschiedenen Nährböden; Christen (1895) fand Sporen von Bodenbakterien, die 16 Std. im strömenden Dampf von 100° C lebensfähig blieben. L. Rabinowitsch (1895. p. 161) isolierte bei 62° C 8 thermophile Bakterienformen, die von 40°—74° C wuchsen, deren Sporen 6-stündiges Kochen im Dampftopf bei 100° C überlebten.

Teich (1896. p. 1904) beschreibt eine Spaltpilzspecies, die bei 54—58° gut wächst: Sie bildet Stäbe, Fäden, endständige Sporen; ist aërob, beweglich, zeigt auf Kartoffel kein Wachstum. Schillinger (1898. p. 568) stellte Versuche über das Gärvermögen der thermophilen Bakterien in Milch bei 66° C an. Er schließt, daß es Bakterien gibt, die bei 66° Gärwirkung und Gasbildung entfalten. Doch dürfte bei 66° das Wachstumsmaximum der betreffenden 4, von ihm isolierten Sorten, liegen. Laxa (1898. p. 362) fand in Zuckerfabrikprodukten bei der sogenannten Schaumgärung bei 55° C einen thermophilen „Bacillus“ der auf Glycerin-Agar Fäden und Sporen bildete, dessen Minimum bei 25° C, dessen Maximum bei 58° C lag. Die Sporen der Form zeigten sich nach 15 Min. langer Dampfeinwirkung von 100° noch lebensfähig. Karliński (1898. p. 471) entdeckte in den Schwefelquellen von Ilidze bei 51° und 58° C 2 thermophile Bakterien, deren Optimum bei 50—60° C lag. Sorte 2 bildete Sporen, Sorte 1 nicht. Oprescu (1898. p. 164) isolierte mehrere thermophile Spaltpilzformen aus Roquefortkäse und aus Blutserum. Davon waren 3 Arten obligat anaërob. Zwei seiner „Species“ wuchsen bei Zimmertemperatur, alle waren sporenbildend. Tsiklinsky (1899. p. 788) isolierte aus Thermenwasser der Insel Ischia 6 thermophile Spaltpilze: Alle zeigten sich als unbewegliche, streng aërobe Stäbchen, deren Optimum bei 60° C, deren Maximum über 70°, deren Minimum bei 37° C (bei 5 Species) und tiefer (1 Species) lag. Ferner erreichte Verf. bei *B. subtilis* durch künstliches Hochzüchten gutes Wachstum bei 57° C. Michaelis (1899. p. 285) fand in Brunnenwasser 4 Formen mit Sporenbildung, deren Optimum bei 57° C lag; Maximum 70°; Minimum für 3 „Species“ 37° C, für 1 „Species“ tiefer. Sames (1900. p. 285) beschreibt 8 Spaltpilzformen aus Erde, Wasser, Faeces, deren Optima zwischen 50° und 70°, deren Maxima zwischen 66 und 75°, deren Minima bei 37° und tiefer liegen. Catterina (1904. p. 353) erhielt bei 60° C auf Agarplatten aus Grabenwasser eine Form, „*Bac. thermophilus radiatus*.“ Dieselbe zeigte 2  $\mu$  lange unbewegliche Stäbchen und trommelschlägelförmige Sporangien. Minimum bei 40° C, Optimum 60—70° C, Maximum 71—72° C. Die Form ist fakultativ anaërob, nicht pathogen. Kehler (1904. p. 12) spricht von 2 Species, die bei 65° Sporen bildeten.

Alle die bei den erwähnten Autoren genannten Formen sind nicht so genau beschrieben, daß ich eine derselben mit einer meiner Species identifizieren kann; vielleicht könnte Oprescu in seinem „*B. thermophilus liquefaciens aërobius*“ den *B. calidus*, in seinem „*B. thermophilus aquatilis*“ den *B. cylindricus*, Catterina in seinem „*B. thermophilus radiatus*“ den *B. tostus* in den Händen gehabt haben, aber ich möchte es nicht einmal wagen, diese Species als möglicherweise synonym zu bezeichnen. Es ist sehr wahrscheinlich, daß verschiedene Autoren gleiche Species in den Händen gehabt haben und verschieden benannt haben.

Ich benutzte bei allen Untersuchungen ein Seibertsches Instrument, homogene Immersion, Apertur 1,26—1,30 für die genauen Untersuchungen mit Kompensationsokular 12, bei Uebersichtspräparaten mit Okular 1.

Die Figuren sind bei einer Vergrößerung von genau 2300 resp. 900 nach der Methode des Praktikums (Arthur Meyer p. 67) gezeichnet. Bezüglich der in der Arbeit angewandten Bezeichnungen, wie stäbig, 1-lang, 2-lang etc. verweise ich auf das Praktikum (Arthur Meyer, 1899. p. 493).

In Bezug auf die Variationsfähigkeit der morphologischen und biologischen Eigenschaften der untersuchten hochmaximalen Species habe ich zu bemerken, daß gerade für diese Species mit hohen Minima und Maxima sowohl die Art des gewählten Kultursubstrates wie auch besonders die Konzentration der im Substrate enthaltenen Nährstoffe für die Entstehung von bestimmten, von den normalen Verhältnissen abweichenden Morphoden von großer Bedeutung ist. So bildet z. B. *B. cylindricus* auf Agar ohne Dextrose und auf  $\frac{1}{5}$  D Agar fast ausnahmslos schlanke, homogene Einzel- und Doppelstäbchen und nur wenige 3-stäbige, je einzellige, Fäden, auf 3 D Agar hingegen, auf welchem *B. cylindricus* auch makroskopisch schon ein abweichendes Verhalten zeigt, bildet diese Species neben Einzel- und Doppelstäben auffällig viele lange, bis sehr lange unseptierte Fäden, die dann oft mit körnigen Plasmamassen angefüllt, d. h. degeneriert, sind. In noch auffälligerer Weise zeigt *B. cylindricus* dieses Verhalten, wenn man ihn (als Oidienmaterial) auf 3 % D Agar ziemlich weit unterhalb seines Optimums, etwa bei 40—45° kultiviert.

Auch für die von mir untersuchten Bakterien gilt in vollem Maße die bekannte Tatsache, daß das Aussehen der Platten bei ein und derselben Species unter möglichst gleichen Kulturbedingungen sehr verschieden ausfallen kann. Ganz auffallend zeigt sich diese Verschiedenheit im Aussehen der Kolonien, wenn man auf einer Platte Oberflächen- und Tiefenkolonien von einer Species vergleicht. Während die Tiefenkolonien nach 18—20 Std. meist als kleine, meist scharf umschriebene Einzelkolonien auftreten, die mehr oder weniger kompakt sind, überziehen die Oberflächenkolonien in derselben Zeit oft nahezu die ganze Agarplatte als ein äußerst feiner, hauchartiger, oft kaum sichtbarer Belag von sehr unregelmäßiger Gestalt.

Bezüglich des Fanges der untersuchten Bakterien aus Erde wurde folgendermaßen verfahren: ca. 2 g der Erde wurden mit Wasser genau 2 Min. lang in einem Reagensröhrchen abgekocht. Von dieser gekochten, nun schlammigen Masse wurden Spuren, ca.  $\frac{1}{2}$  Platinöse voll, strichförmig auf 3 % D Agarplatten übergeimpft, und wurden diese Platten im Thermostaten bei 60° C gehalten. Um das Eintrocknen des Agars zu verhindern, wurden die Platten zu je 2 in eine große Kulturschale mit Deckel verbracht, deren Boden ständig sterilisiertes Wasser ca. 3—4 mm hoch bedeckte. Nach Auftreten von Kolonien wurden die Species dann in weiter unten zu beschreibender Weise isoliert. Bei allen späteren Versuchen bei höheren Temperaturen, über 30° C, wurden die Kulturgefäße und -Röhrchen in Glasgefäßen mit Deckel, deren Boden sterilisiertes Wasser oder Kupfersulfatlösung bedeckte, im Thermostaten gehalten. Es gilt dies besonders für die Untersuchungen über die Maxima, bei Agarstrich, Agarstich, Möhren-, Kartoffelkulturen, Agarplatte, ferner für die Versuche mit Nährlösungen, für die Alkali- und Säurebestimmungen in Erlenmeyer-Kölbchen.



Zu den Agarkulturen wurde verwendet: 1) 3 D Agar, d. h. ein Agar, welcher die Zusammensetzung des Nähragars mit Dextrose (Arthur Meyer, 1903. p. 27) mit der Abweichung, daß er statt 1,6 Proz. Agar 3 Proz. Agar enthielt; 2) derselbe Nähragar ohne Dextrose bezeichnet als 3—D Agar. 3) 3 D Agar von  $\frac{1}{3}$  Nährstoffkonzentration, bezeichnet als  $\frac{1}{3}$  D Agar; 3) derselbe Agar ohne Dextrose, bezeichnet als  $\frac{1}{3}$ —D Agar. Bei Herstellung des Agarnährbodens wurde besonders zu diesem Zwecke ausgesuchter, bei höheren Temperaturen von 60—65° C festbleibender Agar benutzt. Wir haben Versuche mit verschiedenen Agarsorten des Handels angestellt, bei denen sich „Strähnenagar“ von Caesar und Loretz, Halle a. S. am besten bewährte.

Bezüglich der weiteren Isolierung der untersuchten 4 Species verfuhr ich folgendermaßen (vergl. Meyer, Praktikum. p. 70): Statt Nährlösung verwandte ich zur Verdünnung I steriles Wasser, impfte ein Agarröhrchen mit 2 Oesen dieser Verdünnung I, schüttelte um und goß den gelösten Agar in eine Petri-Schale: Platte I; von der Verdünnung I in Wasser entnahm ich nach Umschütteln 3 Oesen Material und impfte diese in ein zweites Reagensröhrchen mit Wasser: Verdünnung II; schüttelte um, impfte davon 2—3 Oesen in ein Agarröhrchen über, goß dieses nach Umschütteln zur Platte II aus. Von der Verdünnung II stellte ich auf obige Weise Verdünnung III in sterilem Wasser, und von dieser in gleicher Weise Platte III her.

#### **Bacillus cylindricus A. M. et Blau.**

Dieser Bacillus wurde von mir aus trockener Felderde, die von einem Kartoffelacker auf Marburger Gebiet stammte, und zwar aus ganz oberflächlichen, der Sonne den ganzen Tag über zugänglichen Schichten dieser Erde isoliert.

Die Sporen: Die normale, weitaus am häufigsten vorkommende Sporenform ist cylindrisch-stäbchenförmig (Fig. I a 1, 2, 3, 4, 5), mit meist abgerundeten Polen. Häufig ist ferner eine bohnenartig gekrümmte Form, ebenfalls mit abgerundeten Polen (Fig. I a 10, 6, 12). Außer den beiden obigen Formen kommen noch cylindrisch-walzenförmige und meist kleinere ellipsoide Sporen vor (Fig. I a 7—9, 17). Abweichende Formen, unter denen besonders an einem Pole verjüngte Sporen auffallen, gibt Fig. I a 11, 16. Die Membran, besonders die der kleineren Sporen, erscheint ringsum gleichmäßig von mittlerer Stärke. An der Membran großer Sporen, namentlich der cylindrisch-stäbchenförmigen, lassen sich oft, aber stets undeutlich, schon ungefärbt, 4—6 warzige Spitzchen oder Höckerchen erkennen. Relativ besser lassen sich diese nach Durchfärbung der Sporen mit Jodjodkalium s oder mit Methylenblau 1 + 10 erkennen (Fig. I a 8). Exine und Intine sind ungefärbt nicht zu unterscheiden. Dagegen mit Jodjodkalium c (1 Oese ausgeschleudert auf 2 Oesen Wasser) und mit Methylenblau k gefärbt, lassen sich Exine und Intine an großen Sporen mäßig gut unterscheiden (Fig. I a 18). Die Dicke der Intine und der Durchmesser des Protoplasten sind dabei nahezu von gleicher Größe. Der Querschnitt der Sporen ist rundlich (Fig. I a 18) mit geringen Abflachungen, an großen Sporen lassen sich auch am Querschnitt ab und zu 1—2 Spitzchen erkennen (Fig. I a 18 a).

Größe der Sporen: Die normalen cylindrisch-stäbchenförmigen Sporen haben eine Länge von 2,5  $\mu$  und eine Breite von 0,9  $\mu$ ; die größten 2,9 : 1,15  $\mu$ , die kleinsten 1,8 : 0,8  $\mu$ . Die bohnenförmigen Sporen haben eine Länge von 2,6  $\mu$ , Breite 0,9  $\mu$ ; die größten 3 : 1,1  $\mu$ ; die

kleinsten  $1,6:0,7 \mu$ . Die ellipsoiden Sporen sind im Durchschnitt  $1,9:1,2 \mu$ . Einige der Sporen, namentlich die bohnenförmigen und die zugespitzten, zeigen an einem Pol, die zugespitzten stets am verjüngten Pole, ein ca.  $\frac{1}{2}-\frac{2}{3} \mu$  langes Anhängsel, ein undeutlich strähnig verquollen strukturiertes Gebilde, welches oft ein oder zwei plasmatische Klümpchen am Ende aufweist (Fig. Ia 5, 15). Dieses Sporenanhängsel wurde mit Reagentien behandelt: Methylenblau k färbt das Plasma der vorhandenen Oidien und Sporangien tiefblau; das Sporenanhängsel färbt sich ebenfalls blau, am tiefsten die Klümpchen des Anhängsels. Fuchsinlösung: die Sporenanhängsel werden im Verhältnis zum Plasma der Sporangien und Stäbchen etwas heller und langsamer gefärbt, schneller färben sich die Klümpchen. Jod-Jodkali k: 1 ausgeschleuderte Oese auf 2 Oesen Wasser: Die Anhängsel werden gelb bis gelbbraun gefärbt, ähnlich den Stäbchen, nur etwas heller, entsprechend ihren geringen Dimensionen. Ruthenium-Rot: Die Stäbe werden violett gefärbt, die Anhängsel schwächer rot. Chloralhydrat: Hellt die Anhängsel so stark auf, daß sie infolge ihrer Kleinheit nur noch sehr undeutlich zu sehen sind. Kalilauge: wirkt ebenso. Eau de Javelle: Löst in kurzer Zeit die Oidien sowohl wie die Anhängsel nahezu auf. Ueber die Natur der Sporenanhängsel ist aus den Beobachtungen nichts Sicheres zu erschließen.

Die Keimung: Bei 1 Minute abgekochtem Sporenmaterial erfolgt diese bei  $60^{\circ} \text{C}$  auf  $\frac{1}{8}$  D Agar nach 4—5 Std. Die Sporen schwellen vor der Keimung sehr wenig an, und zwar nur geringgradig im Querdurchmesser (Fig. Ia 19). Die Keimung erfolgt zumeist äquatorial mit einseitigem Aufreißen der Sporenmembran (Fig. Ib 1—5). Polare Keimung habe ich zweimal beobachtet. Die Keimstäbchen (1 lang =  $6,7 \mu$ ) werfen die Sporenmembran nach erfolgter Keimung meist sehr schnell ab. Schon 5—6 Std. nach der Sporenaussaat sind nur vereinzelt  $\frac{1}{2}$  oder  $\frac{2}{3}$ -lange Keimstäbchen mit anhaftender Sporenmembran zu finden. Die Keimstäbchen werden  $\frac{1}{3}$ —1 lang, die meisten sind  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{2}{3}$ -lang und  $0,9-1,1 \mu$  breit (Fig. Ic 1—4). Neben geraden Keimstäbchen finden sich auch leichtgebogene. Der Protoplast ist homogen, auch Färbung mit Methylenblau 1 + 10 und Fuchsin brachten keine Differenzierung hervor. Die Membran der Keimstäbchen ist von mittlerer Stärke. Die Pole der Keimstäbchen sind konvex.

#### Entwicklungsgang auf $\frac{1}{8}$ D Agar.

Nach 6—7 Std. finden sich fast ausschließlich homogene Einzel- und Doppelstäbchen, zum Teil in lebhafter Schwärmbewegung begriffen,  $\frac{1}{3}$ —1-lang,  $0,9-1,2 \mu$  breit und fast durchweg je einzellig (Chlorzinkjod) (Fig. Ic 5—7). Nach 10 Std. sind fast durchweg  $\frac{1}{2}$ —1— $1\frac{1}{4}$ -lange Einzel- und Doppelstäbe, die homogenes Aussehen aufweisen, gebildet. Vorherrschend sind unter ihnen, die 1-langen Stäbchen. Außer vereinzelt bis 3-langen unseptierten Fäden kamen seltener 2—3-stäbige, einzellige Fäden vor, deren Einzelstäbe dann  $\frac{2}{3}$ —1-lang waren. Die meisten der Stäbchen sind gerade, doch finden sich auch überall gebogene Stäbchen (Fig. Ic 6). Die Membran der Stäbchen ist mittelstark. Mit Methylenblau 1 + 10 lassen sich in einzelnen Stäbchen Sporenanlagen nachweisen (Fig. Id 1). Bei Anwendung von Jodjodkalium s treten in den Einzel- und Doppelstäbchen breite, tiefbraune bis violett gefärbte Bänder (Fig. Ic 7) von Glykogen gemischt mit Jogen hervor. Außer diesen Morphoden fanden sich auf der Agarfläche, jedoch äußerst selten, „Kugeln“ (Fig. Ik 1—4). Nach 16—18 Std.: Die meist zu-

sammenhängende, aus zusammengefloßenen Einzelkolonien bestehende Strichkultur von gelbweißlicher Farbe besteht zumeist aus reifen Sporangien (Fig. If 1—7), ferner finden sich viele meist 1- und  $1\frac{1}{2}$ -lange Einzel- und Doppelstäbe, oft schwärmend und ferner wenig freie, neu-gebildete Sporen. Die Sporen in den cylindrischen Sporangien liegen parallel zur Sporangienwand in vielen Sporangien endständig, in anderen nicht ganz endständig. „Kugeln“<sup>1)</sup> sind vorhanden, jedoch nur vereinzelt. Im Kondenswasser fanden sich Einzel- und Doppelstäbchen, zum Teil schwärmend, alte Plasmareste, vereinzelt 3-lange unseptierte Stäbe. Nach 22—24 Std.: Auch hier sind noch viele Einzel- und Doppelstäbe vorhanden, teils schwärmend, ferner aber viel reife Sporangien und mäßig viele freie Sporen. Die Sporangien sind meist gerade, einige gebogen (Fig. If 1, 3) und haben eine Länge von 4,5—7,5  $\mu$  bei einer Breite von 0,8—1,1  $\mu$ . Es sind fast durchweg Einzelsporangien. In den Stäbchen sowohl wie in den Sporangien läßt sich auch hier viel Glykogen nachweisen (Fig. If 4). Es sind nur wenig 2- bis 3-lange, ca. 1,1  $\mu$  breite, unseptierte Fäden zu finden. Einzelne Einzelstäbe (1-lang) sind etwas verbreitert bis 1,4  $\mu$  (Fig. Ic 5). Seltener finden sich in diesem Stadium reife Sporangien, bei denen die Membran am Sporende blasig aufgetrieben ist, so daß mehr oder weniger Trommelschlägelform entsteht (Fig. Id 1). An einzelnen Sporangien dieser Art sieht man ungefärbt sowohl wie gefärbt dicht unterhalb der Spore, die ab und zu dann auch schräg zur Längsachse des Sporangiums gelegen ist, eine hellere, durchscheinende, plasmaarme Zone. Im Kondenswasser finden sich alle beschriebenen Morphoden neben Schwärmoidien. Kugelschwellformen finden sich überall, jedoch verstreut. Nach 28—30 Std.: Die mäßig dicke, zusammenhängende Kolonie besteht jetzt hauptsächlich aus reifen Sporangien mit cylindrisch-stäbchenförmigen und bohnenförmigen Sporen an einem Pole und aus sehr vielen neuen Sporen, von denen einzelne an einem Polende das beschriebene Anhängsel tragen. Ferner finden sich etwas in der Breite geschwollene Stäbchen und ebensolche geringgradig verbreiterte, homogene 2—3-lange, unseptierte Fäden. Kugelschwellformen finden sich in jedem Präparat, jedoch nicht in Masse. Nach 34—36 Std.: Sehr viel freie Sporen, viele reife Sporangien, dazwischen zum Teil schwärmende normale Einzel- und Doppelstäbe; ferner etwas mehr Kugelschwellformen. Im Kondenswasser dieselben Morphoden. Nach 2 Tagen: Vorwiegend Sporen und homogene, normale Stäbchen; weniger Sporangien und längere unseptierte Fäden. Kugeln in der Zahl wie nach 36 Std. Nach 3 Tagen: Neben allen normalen Morphoden hier Sporen mit schwach geschwollener Membran, Stäbchen bis 1,35  $\mu$  verbreitert; ferner finden sich jetzt ziemlich viele Kugeln; im Kondenswasser ferner unseptierte Fäden. Nach 4 Tagen: Größtenteils freie Sporen, Kugelschwellformen, Membran- und Stäbchenreste. Daneben ziemlich wenig  $1\frac{1}{2}$  bis 1-lange Einzel- und Doppelstäbchen. Nach 6 und mehr Tagen: Sporen, Kugeln und allerlei Reste.

Die Beweglichkeit: Die Oidien beginnen bald nach der Keimung, etwa nach 6—6 $\frac{1}{2}$  Std. nach erfolgter Aussaat zu schwärmen. Der Schwärmzustand ist lebhaft nach 10—11 Std. Jedoch läßt sich bei *B. cylindricus* in jedem Stadium der Entwicklung, nach 14, 16, 20, 24, 36, 48 Std. bei mäßig vielen Einzel- und Doppelstäbchen ziemlich lebhaft Schwärmbewegung beobachten. Dieselbe läßt jedoch bei Zimmertemperatur schnell nach und hört oft bei der Untersuchung schon innerhalb

1) Näheres darüber s. p. 31.

einer Viertelstunde nahezu ganz auf. Der Schwärmzustand im Kondenswasser ist dem auf Agar gleich. Es finden sich Einzel- und Doppelschwärmer. In einzelnen 14—16-stündigen Agarkulturen fand ich ab und zu 3—4-lange, sich ziemlich schnell dahinbewegende, unseptierte Fäden. Die gewöhnliche Art der Oidienbewegung ist Pendelbewegung, wobei die Einzelschwingungen kurz aufeinanderfolgen. Gebogene Stäbe zeigten oft eine Schraubenbewegung. In 12—20-stündigen und noch älteren Kulturen fand ich auch ziemlich viele schwärmende reife Sporangien. Sie bewegten sich dabei in ziemlich gleicher Zahl mit ihrem Sporenende oder dem sporenlosen Pol voran und überschlugen sich dabei öfter.

Die Begeißelung ist peritrich und zeichnet sich durch relativ lange Geißeln aus. Zur Darstellung der Geißeln brachte ich 15 bis 30 Min. langes Beizen in Anwendung. Hierauf wurden die Präparate 20—30 Min. mit Säureviolett unter Erwärmen bis zum Dampfaufsteigen gefärbt. Geißeldarstellung Fig. 1g1 u. g2.

$\frac{1}{3}$  D Agar. Im allgemeinen ist zu bemerken, daß die Species fast ebensogut wächst wie auf Agar + Dextrose, nur ist die Entwicklung von Spore zu Spore hier eine schnellere. Die Keimung findet nach 4—5 Std. bei 60° C statt, sie ist auch hier meist äquatorial. Nach 6—7 Std. findet man durchweg Einzel- und Doppelstäbchen, viele schwärmende und wenige dreistäbige Fäden. Alle diese Morphoden haben normale Form und Größe. Nach 10 Std. Es zeigen sich meist stecknadelkopfgroße, weißlich oder agarfarben durchscheinende Tropfenkolonien auf der Agarfläche. Diese bestehen vorwiegend aus normalen und ferner etwas schmäleren Einzel- und Doppelstäben, jedoch finden sich schon ziemlich viele reife, schlanke Sporangien, oft etwas schmaler als bei Agar + D; außerdem viele Stäbchen mit Sporenanlage (Methylenblau 1 + 10) und Glykogen. Kugeln waren wenige zu finden, doch etwas mehr als nach 10 Std. bei Agar + D. Nach 16—17 Std.: Sehr viele reife Sporangien neben normalen und etwas schmäleren Einzel- und Doppelstäbchen; ferner ziemlich viele reife Sporen und nicht viele Kugeln. Nach 34—36 Std.: Es finden sich sehr viele freie Sporen und Sporangien, ferner Einzel- und Doppelstäbchen, die zum Teil schwärmen. Einzelne Einzelstäbe sind an einem Pole trommelschlägelförmig geschwollen. Dreistäbige Fäden sowie Kugeln wenige vorhanden. Nach 2 Tagen: Die stumpfe, trockene, dünne Kolonie besteht zumeist aus freien Sporen, daneben vielen normalen Stäbchen, und ziemlich vielen Kugeln und Resten. Nach 3 und 4 Tagen: Gemisch von normalen, zum Teil etwas schmäleren Sporen, Sporangien, Einzel- und Doppelstäben und vielen verschieden großen Kugeln und Resten. Nach 5 Tagen: Meist freie Sporen, Kugeln, Reste von Membranen etc. Nach 6 und mehr Tagen: Sporen, Kugeln mit körnigen Plasmaklumpen und vielerlei Membran-, Kugel- und Stäbchenresten.

Agarstrichkultur:  $\frac{1}{3}$  D Agar: Nach 9—10 Std. waren kleine, meist stecknadelkopfgroße Kolonien entstanden. Sie waren glasig durchscheinend, nahezu agarfarbig bis farblos. Nach 20 Std. waren die tröpfchenförmigen Einzelkolonien zu einem zusammenhängenden Belage, der fast die ganze Agarfläche überzog, verschmolzen. Dieser Belag zeigte eine weißlich- bis gelblichgraue Farbe und mäßig spiegelnden Glanz. Die Ränder zeigten unregelmäßige Lappung, waren aber im übrigen glatt abgesetzt. Die Struktur des Belages war nahezu homogen, bisweilen sehr fein körnig. Der Belag war mit der Nadel

leicht abnehmbar, kaum schleimig. Das Kondenswasser war leicht getrübt. Nach 30 Std. ist der Belag grauweiß mit einem Stich ins Gelbliche. Auch hier am Rande geringe, unregelmäßige Ausbuchtungen. Das Kondenswasser ist milchartig getrübt. Die Kolonie zeigt spiegelnden Glanz, homogene Struktur, weiße Konsistenz. Nach 40—42 Std. hat die Kolonie einen graugelblichen Farbenton angenommen; sie ist von mäßiger Dicke. Nach 2 Tagen ist die Kolonie etwas dicker, zeigt spiegelnden Glanz. Aeltere Kolonien sind gelbbraunlich, etwas dünner, feucht, glasig glänzend. Im Kondenswasser mäßig dicker Niederschlag in Flocken.

Agarstrichkultur  $\frac{1}{3}$  D Agar. Jüngere, etwa 20-stündige Kolonien mehr agarfarben bis grauweiß, ohne jenen Stich ins Gelbliche, auch sind sie dünner. Die Kolonien sind trockener, der Glanz geringer, so daß der Belag stumpf erscheint. Aeltere Kolonien, etwa 6—8 Tage alt: Belag dünner, trockener, weißgrau, Kondenswasser trübe.

Agarstich:  $\frac{1}{3}$  D Agar: Nach 24 Std. hat sich nur auf der Oberfläche des Agars eine gelbgraue, fast agarfarbene, sehr dünne Kolonie entwickelt. Nach 2 Tagen überzieht die Oberflächenkolonie die ganze Agarfläche und ragt ohne Ausstrahlungen ca.  $1\frac{1}{2}$  mm in den Stichkanal hinein. Ebenso verhält sich eine Stichkultur in  $\frac{1}{3}$  Agar ohne D in derselben Zeit. Nach 3 Tagen: derselbe Befund. Nach 4 Tagen reicht die Kolonie als feiner Faden 3—4 mm in den Stichkanal hinein. Nach 3—4 Wochen: Auf der Oberfläche zeigt sich eine mäßig dicke, gelbbraunliche Kolonie, dicht unter der Oberfläche hat sich die Kolonie scheibenartig verbreitert; im Stich Wachstum bis 4 mm.

Agarplatte  $\frac{1}{3}$  D Agar: Nach 14—15 Std. bei 60° C zeigen sich auf der Platte meist unregelmäßig runde bis vieleckig abgerundete, weißlichgraue Kolonien von geringer Dicke. Der Rand derselben erscheint glatt abgesetzt. Am Rande einiger Kolonien zeigen sich Fortsätze und Ausstrahlungen in Form von ganz kurzen, unregelmäßig angeordneten Spitzchen. Mikroskopisch erscheinen die Kolonien gelbbraunlich, im Zentrum braungelb. Der Rand der Kolonien ist scharf gegen die Umgebung abgesetzt, nur selten zeigt er eine feine faserige Struktur. Das tief bräunliche Zentrum zeigt undeutlich körnige Struktur. Bei hoher Einstellung sieht man an manchen Kolonien feine Wellenzeichnungen, die konzentrisch angeordnet sind. Nach 24 Stunden haben sich die Einzelkolonien vergrößert, einige sind zusammengefloßen und überziehen als feiner grauer Belag einen großen Teil des Agars. Nach 2 Tagen: Nahezu die ganze Agarfläche ist von einem teils dünnen, teils dickeren Ueberzug der Species bedeckt.

Kartoffelscheibe: Trotz mehrmaligen Impfens von Sporen und jungen Oidien, trotz Feucht- und Trockenhaltung des Substrates zeigte sich innerhalb 3—4 Wochen kein Wachstum.

Möhrenscheibe: Kein Wachstum trotz wiederholten Impfens.

Da *B. cylindricus* nach längerer Züchtung auf Agarnährböden wesentlich andere biologische Merkmale darbot, als bei der Untersuchung kurz, d. h. 2 Wochen, nach erfolgter Isolierung aus Erde, so sollen im folgenden die Veränderungen im Entwicklungsgange auf 3-proz. D-Agar Erwähnung finden. Ca. 1—2 Wochen nach der Isolierung erfolgte die Sporenkeimung etc. folgendermaßen: Bei 1 Minute abgekochtem Sporenmaterial begann die Keimung nach 2—2 $\frac{1}{2}$  Stunden. Die Sporen schwollen vorher wenig an. Die Keimung war äquatorial. Die Keimstäbchen wurden  $\frac{1}{2}$ —1-lang (1-lang = 6—6,5  $\mu$ ). Der Schwärm-

zustand der Oidien begann nach 4 Stunden nach der Aussaat und waren Schwärmer bis zu 48 Stunden nachweisbar. Nach  $5\frac{1}{2}$ —6 Std. fanden sich vorwiegend Einzel- und Doppelstäbe, nach 11—12 Stunden neben obigen Morphoden schon viele unreife und reife Sporangien, von denen viele lebhaft schwärmten. In den Stäben und Sporangien fand sich viel Glykogen in breiten Bändern. Nach 14 Stunden viele freie Sporen neben den früheren Morphoden. Entwicklungsgang auf 3% D Agar nach 5—6-monatiger Kultur: Die Sporenkeimung erfolgt nach 9—10 Stunden. Sie ist äquatorial. Die meist einlangen Keimstäbchen sind homogen. Koloniebildung erfolgt nach 15—16 Stunden in Form durchsichtiger, agarfarbener Tröpfchenkolonien, die dicht oberhalb des Kondenswassers befindlich sind. Einzelne sind zu einem dünnen Belag zusammengefloßen. Der Belag ist kaum sichtbar und macht einen kränklichen Eindruck. Er besteht aus homogenen normalen und ferner etwas verbreiterten Einzel- und Doppelstäbchen und 3—6-stäbigen, einzelligen Fäden, die wenig Glykogen enthalten. Außerdem finden sich 4—5-lange, unseptierte Fäden und viele degenerierte Fadenstücke und Stäbchen. Vereinzelt fanden sich in diesem Stadium noch keimende Sporen. Zum Schluß fanden sich wenig verschieden große Kugeln. Nach 20—22 Stunden finden sich noch immer nur homogene Einzel- und Doppelstäbe von verschiedener Länge und normaler Breite, einige etwas verbreitert, und außerdem Kugeln in geringer Zahl. Nach 38—40 Stunden finden sich neben obigen Morphoden reife normale zylindrische und ferner etwas verbreiterte und dann trommelschlägel-förmige Sporangien, ferner mäßig viele freie Sporen und außerdem ziemlich viele Kugeln. Nach 48—52 Stunden bedeckt die Kolonie als bräunlich-gelber, feucht spiegelnder Ueberzug einen großen Teil der Agarfläche. Sie besteht aus freien Sporen, Sporangien, vielen Kugeln, wenigen verbreiterten Einzel- und Doppelstäben und längeren, unseptierten Fäden, daneben viele Stäbchen- und Kugelreste.

Bei Entwicklung auf 3 D Agar zeigte *B. cylindricus* nach 18 Stunden reife Sporangien außer Stäben, und ferner wenig Kugeln. Nach 2 Tagen Gemisch aus Sporen, Sporangien, Oidien, Kugeln. Nach 5—6 Tagen fast nur Sporen, Kugeln, Reste von Stäben und Kugeln.

#### Entwicklungsgang in Nährlösungen.

Die abgekochten Sporen des *B. cylindricus* keimen in den Nährlösungen I, XI und 0 mäßig resp. ungleichmäßig.

In NL. I nach 2 Tagen: wenig Einzel- und Doppelstäbchen, zum Teil beweglich; die Lösung ist schwach getrübt, obenauf dünne Kahmhaut. In NL. XI nach 2 Tagen: feine Trübung; es finden sich Einzel- und Doppelstäbchen und 3—5-lange, unseptierte Fäden. Nach 4 Wochen NL. I. Auf der Oberfläche zeigt sich eine feine, gelb-weiße Kahmhaut, die aus schlanken Einzel- und Doppelstäben, 3—5-stäbigen oder unseptierten Fäden und sehr viel Kugeln und Membranresten besteht; nur vereinzelt finden sich Sporangien und freie Sporen. Die Lösung ist mäßig getrübt. Am Boden ziemlich dicker gelb-weißer Niederschlag; dieser besteht aus Kugeln, Membranresten, oft degenerierten (körnigen) Stäben und Fäden mit granuliertem Plasma. NL. XI. Auf der Oberfläche sehr feine, stumpfe, weiß-graue Kahmhaut, die fast ausschließlich aus normalen Sporen besteht. Die Lösung ist schwach trübe, enthält meist degenerierte Morphoden, am Boden ein sehr schwacher Niederschlag vorhanden. NL. 0. Kahmhaut aus Kugeln und degenerierten Stäben; gelb-weißer Bodensatz aus degenerierten Stäben und Kugeln. Die Lösung ist mit sehr feinen Partikeln durchsetzt.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen: Das Wachstum in Nährlösungen ist im allgemeinen kein üppiges; besser als im Reagenzröhrchen wächst *B. cylindricus* in Kölbchen, was auf sein Sauerstoffbedürfnis hinweist. Das Wachstum ist nach

4 Wochen bei 60° C folgendes: NL. 0 siehe Keimung. Wenig Säure. — I siehe Keimung: Kahlhaut meist aus Kugeln und degenerierten Stäben bestehend; Lösung bis auf wenige feine Partikel klar. Niederschlag wie oben; Säure. — II: Lösung klar, sehr schwacher Niederschlag aus Degenerationsformen. — III: Lösung klar, auf dem Boden weiße wolkige Schicht aus Einzel-, Doppelstäbchen, oft mit granuliertem Plasma, Kugeln, Alkali. — IV: Lösung weiß getrübt, weißlicher Niederschlag, bestehend aus Sporen und Resten Alkali. — V: kein Wachstum. — V $\alpha$ : ebenso. — V $\beta$ : Lösung klar, sehr schwacher Bodensatz aus degenerierten Einzel-Doppelstäben, Reste. — V $\gamma$ : kein Wachstum. — V $\delta$ : dünne grau-weiße Kahlhaut aus Einzel- und Doppelstäben, 1—3-lang, Kugeln; Lösung trübe, am Boden ein wolkiger, weißer Niederschlag aus Stäben, Kugeln, Sporen. — VI: feine Kahlhaut; Lösung getrübt, ziemlich dicker, weißer Niederschlag aus Einzel-Doppelstäben, Kugeln, Sporen; Säure. — VII: kein Wachstum. — VIII: ebenso. — IX: feine Trübung, feiner weißer Niederschlag wie bei VI. — X: wie IX. — XI: Lösung weiß getrübt, feiner Niederschlag wie bei VI.

Intensitätstabelle.

0	I	II	III	IV	V	V $\alpha$	V $\beta$	V $\gamma$	V $\delta$	VI	VII	VIII	IX	X	XI
1—2	3—4	0	3	3	0	0	1	0	3—4	4	0	0	2	1	2

Alkalibildung erfolgt in NL. III, IV. Indicator, Dimethylamidoazobenzol. NL. III 10 ccm gleich = 0,1 ccm  $\frac{1}{10}$  Normalsalzsäure. Entwicklung bei 60° C in NL. III: 1) nach 8 Tagen 10 ccm = 1,4 ccm  $\frac{1}{10}$  NS. 2) nach 14 Tagen 10 ccm = 1,8 ccm  $\frac{1}{10}$  NS.

Reservestoffe: Glykogen, kein Volutin. Diastasebildung in NL. III vorhanden, in NL. VI nicht. Gasbildung fehlt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 19—20 Stunden.

Untersuchungen über die in Kulturen und speziell in älteren Kulturen in großer Menge vorkommenden „Kugeln“ (3 % D Agar). Diese „Kugeln“ von verschiedener Größe (Fig. 1k, 1—4) zeigen in ihrem Innern oft mehrere, 3—6 ca., zusammenhängende klumpige Massen, die bei späterer Behandlung mit Farbstoffen und Reagentien als Plasmaklumpen erkannt wurden. Die äußere Begrenzung der Kugeln bildet, wie die angestellten Untersuchungen ergeben haben, eine Membran, welche in ihrer Dicke derjenigen der neben den Kugeln vorhandenen normalen und degenerierten Oidien und Ruhestäbchen nahezu entspricht. Außer diesen ganzen Kugeln kamen auch welche vor, bei denen sich durch Färbung meist Methylenblau 1+10 nachweisen ließ, daß ein Stück der Kugelmembran fehlte, und bei denen der Rand eines so entstandenen Loches unregelmäßig ausgebuchtet und ausgefranst erschien (Fig. 1k, 2). Ferner fanden sich Kugeln, die an einer Stelle einen stielförmigen Fortsatz trugen. Dieser wurde von einem geschrumpften und gekrümmten, degenerierten Stäbchen mit körnigen Plasmamassen gebildet (Fig. 1k, 4). Einige Male fand sich in einer der Kugeln eine reife Spore. Die Kugeln, verschieden groß, liegen anfangs vereinzelt, später in Haufen beieinander. Mit Reagentien behandelt verhalten sich die Kugeln folgendermaßen: Methylenblau 1+10, Safranin, Fuchsin färben die Kugeln wie die Oidien des *B. cylindricus*, ebenso Jod-Jodkaliumlösung, 1 Oese k ausgeschleudert auf 2 Oesen Wasser; dieses Reagens bedingt geringe Schrumpfung der Kugeln und Oidien. Chloralhydrat hellt Kugeln und degenerierte Stäbe stark auf. Eau de Javelle löst sowohl Kugeln wie Stäbe nach und nach auf. Durch Impfung der Kugeln auf 3-proz. D-Agar konnte Koloniebildung nicht erzielt werden, wenn es gelang, reines Kugelmateriel zur Impfung zu verwenden.

Bei Versuchen auf Geißelfärbung zeigten sich die Kugeln ungeißelt. Eine genauere Untersuchung der hier als „Kugeln“ bezeichnete



Gebilde hat Herr Professor Arthur Meyer ausgeführt. Er wird dieselbe an anderer Stelle veröffentlichen.

**Wichtigste Merkmale der Species *Bacillus cylindricus*  
A. M. et Blau.**

**Spore.** Sporengröße 1,8—3  $\mu$  lang, 0,7—1,1  $\mu$  breit. Sporenform normal: Fig. 1a 1—10, selten 11, 17. Exine und Intine der Sporenmembran ungefärbt nicht zu unterscheiden. Mit Jod-Jodkali an großen Sporen Exine und Intine mäßig gut zu unterscheiden. Die Sporen schwellen vor der Keimung wenig an. Die Membran trägt oft Höckerchen. An vielen Sporen ein fädiges Anhängsel. Die Keimung erfolgt zumeist äquatorial mit einseitigem Aufreißen der Sporenmembran (Fig. 1b, 1—5). Die Keimstäbchen werden bis 1-lang und bis 1,1  $\mu$  breit. Die Sporenmembran wird nach erfolgter Keimung schnell abgeworfen. Auf  $\frac{1}{3}$  D Agar bei 60° C nach 6—7 Std. einzellige homogene Einzel- und Doppelstäbchen. Nach 10 Std. Glykogenspeicherung in den Stäbchen, in einzelnen Stäbchen Sporenanlage. Nach 16—18 Std. meist reife Einzelsporangien, Spore endständig; Glykogen, vereinzelt „Kugeln“. Nach 22 Std. Sporangien, die zum Teil schwärmen, nachgebildete Sporen, ziemlich viel „Kugeln“. Schwärmen beginnt nach 7 Std., Schwärmer peritrich begeißelt, ebenso die schwärmenden Sporangien (Fig. 1g, 1, 2). Die Intensität des Wuchses in NL. I und V $\delta$  = 3—4, II, V, V $\alpha$ , VII, VIII, 0 ist charakteristisch. Agarstrichkultur  $\frac{1}{3}$  D Agar: Nach 10 Std. agarfarbene Punktkolonien. Nach 20 Std. zusammenhängender gelblicher Belag, homogen, mit der Nadel leicht abnehmbar. Das Kondenswasser ist leicht getrübt. Nach 2—3 Tagen Kolonie mäßig dick, gelbbraunlich, glasig glänzend. Möhrenkultur: keine Entwicklung. Kartoffelscheibe: kein Wachstum. Alkalibildung in NL. III, IV. Reservestoffe: Glykogen. Diastasebildung in NL. III vorhanden. Gasbildung fehlt. Abtötungszeit der Sporen bei 100° 20 Std.

***B. robustus* A. M. et Blau.**

Diese Species wurde bei 60° C aus exponiert gelegener Felderde nahe einem Waldesrande bei Marburg isoliert.

Die Sporen des *B. robustus* sind meist cylindrisch-walzenförmig (Fig. 2a 1, 2, 4) une ovoid (Fig. 2a 3, 5), jedoch kommen auch sphäroide bis rundliche Sporen vor, ferner ellipsoide Formen (Fig. 2a 6, 7). Die Pole der ovalen Sporen sind konvex, die der walzenförmigen Sporen flacher abgerundet. Die normalen Sporen sind 2  $\mu$  lang und 0,9—1  $\mu$  breit, die größten 2,2 : 1,2, die kleinsten 1,6 : 0,9  $\mu$ . Die Sporenmembran, mit Fuchsin gefärbt, erscheint als feine rote Linie und ist überall gleich stark. Exine und Intine sind ungefärbt nicht zu unterscheiden. Mit Fuchsin 1+10, 1 Oese auf 1 Oese Wasser, gelang es mir hin und wieder bei großen Sporen, Exine und Intine zu unterscheiden; die Intine erschien dabei als schmaler Saum. Mit Fuchsin ließen sich auch an einzelnen großen Sporen undeutlich Höckerchen auf der Sporenmembran nachweisen (Fig. 2a 5). Der Sporenquerschnitt ist im allgemeinen kreisförmig (Fig. 11a 8), ältere Sporen tragen Reste des Sporangiums an sich. Die Keimung beginnt nach 3—3½ Stunden. Sie erfolgt vorwiegend äquatorial (Fig. 2b 2, 3) und ferner polar unter Durchstoßen eines Poles der Spore (Fig. 2b 4). Die Sporen schwellen vor der Keimung nur wenig an. Die Keimstäbchen werfen die Sporenmembran



bald nach erfolgter Keimung ab, so daß ich in 5-stündigen Kulturen im allgemeinen Keimstäbe mit anhaftender Sporenmembran nicht fand. In  $4\frac{1}{2}$ -stündigen Kulturen fand ich ab und zu einen 3—4-stäbigen Faden, der noch die Sporenmembran trug. Die Keimstäbchen (1-läng =  $3,5\mu$ ) werden fast 2-läng und sind  $1-1,2\mu$  breit (Fig. II b 3, 4). Die Membran ist zart. Der Protoplast erscheint ungefärbt wie auch mit Methylenblau 1+10 gefärbt homogen.

Entwicklungsgang auf  $\frac{1}{3}$  D Agar. Nach  $3\frac{1}{2}$ —4 Stunden finden sich in der Kultur fast ausschließlich Einzel- und Doppelstäbchen. Die Stäbchen sind fast stets einzellig und  $\frac{1}{2}$ —1—2-läng, meist 1-läng und  $1-1,2\mu$  breit (Fig. II c 1, 3). Nach  $4\frac{1}{2}$ —5 Stunden finden sich außer den homogenen Einzel- und Doppelstäbchen selten 3—5-stäbige, je einzellige kurze Fäden (Fig. II c 1). Nach  $7\frac{1}{2}$ —8 Stunden besteht die Kolonie aus meist 1-läng, zum Teil beweglichen Einzel- und Doppelstäbchen, die Glykogenspeicherung zeigen (Fig. II c 2), ferner finden sich überall verstreut Stäbe mit Sporenanlage (Methylenblau 1+10) und junge Sporangien, bei denen sich die Spore deutlich markiert, und die oft kahn- oder spindelförmig gebaucht sind. Auch unter den sporenlosen Stäbchen, die meist cylindrisch oder walzig sind, finden sich mäßig viele in der Mitte gebauchte Formen (Fig. II c 4). In allen Morphoden findet sich ziemlich viel Glykogen meist als breite Zone in der Mitte der Stäbe und Sporangien. Nach 9 Stunden: Neben den Stäbchen finden sich mäßig viel reife Sporangien in Form von Einzel- und Doppelsporangien. Die Sporangien sind stäbchenförmig (Fig. II d 1—3) oder spindelförmig (Fig. II d 5, 6). Neben diesen Formen, die bei weitem vorherrschen, finden sich auch mehr oder weniger ovale Sporangien (Fig. II d 4). Die Länge der Sporangien beträgt im Mittel 3,3 bis  $3,5\mu$ , die Breite  $1,1-1,3\mu$ . Die Breite der ovalen Sporangien beträgt meist  $1,5-1,7\mu$ . Die Spore ist in den stabförmigen Sporangien endständig gelegen, in den spindelförmig gebauchten Sporangien mehr oder weniger mittelständig, in den ovalen Sporangien meist mittelständig. In den stabförmigen Sporangien liegt die Spore stets parallel zur Sporangienwand gerichtet, in den spindelförmigen bis ovalen liegt sie öfter schief zu den Sporangienlängswänden. Die Einzel- und Doppelstäbchen sind cylindrisch oder in geringerer Zahl spindelförmig oder oval bis rundlich. Sie sind stets einzellig. Mit Jodjodkalium s läßt sich in allen Morphoden Glykogen nachweisen. Außer diesen Morphoden finden sich stark geschwollene, abgerundete Stäbchen, Schwellformen (Fig. II b 4). Nach 14 Std. findet sich ein gleichmäßiges Gemisch aus Sporangien und Einzel- und Doppelstäbchen, dazwischen selten 3—4-stäbige Fäden, ferner sind wenig Sporen vorhanden. Nach 18—20 Std. haben die Sporen an Zahl zugenommen. Außer ihnen finden sich alle Formen der Sporangien und meist 1—2-lange Einzel- und Doppelstäbe. Nach 24 Std. Sporangien und Sporen sind jetzt den Stäbchen an Zahl bei weitem überlegen. Nach 40—44 Std. besteht die Kolonie vorwiegend aus Sporen und Sporangien, ferner finden sich Einzel- und Doppelstäbe und mäßig viel degenerierte Stäbe und Reste. Nach 3 Tagen haben die Reste von Stäben und Sporangien zugenommen, so daß sich vorwiegend Sporen und jene Reste finden. Nach 4 und mehr Tagen besteht die Kultur aus Sporen und Resten aller Formen.

**Die Beweglichkeit.** Die Oidien beginnen einige Zeit nach der Sporenkeimung ziemlich lebhaft zu schwärmen, jedoch sistiert ihre Beweglichkeit bei Temperaturerniedrigungen schnell. Das Schwärmen dauerte

bis zur Sporangienbildung. Die Geißelfärbung gelingt nach 10—20 Min. langem Beizen und nach gleich langer Säureviolettbehandlung unter wiederholtem schwachen Erwärmen der Farblösung. Die Begeißelung ist peritrich (Fig. IIe).

Agarstrichkultur auf  $\frac{1}{8}$  D Agar: Die Kolonie wird 6—7 Std. nach erfolgter Impfung in Form eines breiten, sehr feinen, gelbweißen, durchscheinenden Streifens sichtbar. Nach 14 Std. zeigt sich die Kolonie als breiter gelbweißer bis grauweißer, mäßig dicker homogener Streifen, mit spiegelnder, feuchter Oberfläche. Die Ränder der Kolonie zeigen oft feine Zäckchen oder Zähnchen. Das Kondenswasser ist getrübt und enthält einen feinen, weißgelben Niederschlag. Die Kultur läßt sich leicht mit der Nadel abnehmen. Nach 24 Std. zeigt die Kolonie eine weißgraue Farbe mit öfter etwas stumpfer, feinkörniger Oberfläche. Nach 2 Tagen hat die Kolonie noch etwas an Dicke zugenommen, sie ist weißgrau gefärbt, von porzellanartiger Beschaffenheit; das Kondenswasser ist milch-ähnlich getrübt. Nach 3 und mehr Tagen ist die Kolonie weißgrau, mäßig trocken, wenig spiegelnd.

Agarstich  $\frac{1}{8}$  D Agar: Nach 24 Std. zeigte sich eine mäßig dicke, weißliche Oberflächenkolonie, welche als feiner zweigloser Faden 2 mm tief in den Stichkanal eingewachsen war. Nach 2 Tagen läßt sich die Stickschloie bis zu einer Tiefe von 1,3 cm verfolgen. Sie zeigt dicht unter der Oberfläche kurze, zweizeilige, haarartige Fortsätze. Nach 3 Wochen ist die Kolonie im Stich 1 cm tief als Faden mit weniger kurzen Zweigen zu sehen.

Agarplatte  $\frac{1}{8}$  D Agar: Nach 16—17 Std. bemerkt man verschieden große, weißgraue Einzelkolonien von nahezu kreisrunder Form. Ihr Durchmesser betrug 1—3 mm. Neben diesen Einzelkolonien kommen andere, sehr kleine, vor, die insgesamt einen breiten grauweißen Strich oder Streifen bilden. Makroskopisch markiert sich im Zentrum der kreisförmigen Kolonien ein gelbbraunlicher Punkt als Ausgangspunkt der Kolonie. Mikroskopisch erscheinen die Kolonien braungelb bis schmutziggelbbraun. Der Rand ist scharf gegen die Umgebung abgesetzt und zeigt nur Andeutung von Lappenbildung. Das Innere der Kolonien läßt feinkörnige Struktur erkennen. Nach 2 Tagen: Die Einzelkolonien haben sich etwas vergrößert, die punktförmigen Kolonien im Streifen sind ineinander übergegangen. Nach 4 Tagen: Die Kolonien sind kaum gewachsen, ihr Rand zeigt öfter Dellenbildung.

Kartoffelscheibe: Nach 24 Std. zeigen sich kleine, punktförmige, weißgelbe Kolonien, welche nach 2 Tagen etwas gewachsen sind. Sie haben eine feucht glänzende, glatte, nicht häutige Oberfläche und bestehen vorwiegend aus normalen und degenerierten Einzel- und Doppelstäben. Nach 4 Tagen: Die weiße, glänzende Kolonie, die aus zusammengefloßenen Punktkolonien hervorgegangen ist, ist ziemlich dick und besteht aus normalen und degenerierten Stäbchen. Es macht sich ein Geruch ähnlich dem saurer Milch bemerkbar. Nach 2 Wochen zeigt die Kolonie gelbbraunliche Farbe und überzieht nahezu die ganze Kartoffelscheibe. Ihre Oberfläche ist ziemlich trocken, ohne Glanz. Die Kultur strömt einen eigentümlichen süßlich-faden Geruch aus.

Möhrenscheibe: Erst nach 3—4 Tagen zeigte sich auf der Möhre ein schwacher, durchscheinender Belag, bestehend aus meist degenerierten Einzel- und Doppelstäbchen. Nach 6 Tagen ist der Belag zurückgegangen und hat sich auch trotz guten Feuchthaltens der Möhrenscheiben innerhalb 2 Wochen nicht wieder entwickelt.

Entwicklung auf 3-D Agar: Die Entwicklung des *B. robustus* ist auf 3-D Agar eine ziemlich gute, ähnlich der auf  $\frac{1}{3}$  D Agar. Hervorzuheben ist nur, daß sie etwas langsamer verläuft und daß trotz größerer Dicke der Kolonien die Entwicklung eine weniger gesunde ist, da bedeutend mehr degenerierte Stäbe und andere Reste in den Kulturen als in solchen auf  $\frac{1}{3}$  D gleichen Alters zu finden sind. Die Sporenbildung bei 3-D Agar tritt ein nach ca. 12—13 Std.

Entwicklungsgang in Nährlösungen: *B. robustus* keimt in Nährlösung 0, I, VI; ungleichmäßig in III. In NL 0: Nach 24 Std. schwache Trübung; es fanden sich normale und degenerierte, zum Teil bewegliche Einzel- und Doppelstäbe. Nach 3—4 Tagen zeigt sich ein mäßig dicker, gelbweißer Niederschlag, der aus oft degenerierten Stäbchen mit granuliertem Plasma besteht. Nach 4 Wochen findet sich eine feine graue Kahlhaut auf der Lösung. Sie besteht aus normalen und toten Einzel- und Doppelstäben, vielen Resten und sehr wenigen Sporen. Die Lösung ist mäßig trübe, am Boden ein ziemlich dicker, gelbweißer Niederschlag, der dieselben Morphoden enthält wie die Kahlhaut. In NL I: Nach 24 Std. Trübung der Lösung, Einzel- und Doppelstäbe, normal, 1—2-lang. Nach 3—4 Tagen: Niederschlag wie in NL 0. Nach 4 Wochen: Auf der Lösung eine feine Kahlhaut, stumpf, zeigt die Morphoden wie NL 0, ebenso der ziemlich dicke, weißgelbe Niederschlag. Die Lösung ist getrübt, mit sehr feinen Partikelchen erfüllt. In NL III: Nach 3 bis 4 Tagen tritt feine Trübung auf, es finden sich bewegliche Einzel- und Doppelstäbe. Nach 4 Wochen: In der Lösung sind wenige, feine weiße Flöckchen suspendiert, diese bestehen aus normalen und geschwollenen Stäben und wenig Sporen. In NL VI: Nach 3—4 Tagen zeigt sich leichte Trübung der Lösung. Einzel- und Doppelstäbe oft degeneriert. Nach 4 Wochen: An der Oberfläche zeigen sich dünne flottierende Häutchenreste; die Lösung ist klar; am Boden findet sich ein grauweißer Niederschlag aus meist granulierten Einzel- und Doppelstäben und Resten.

Wachstum in Nährlösungen nach 4 Wochen bei 60° C. NL 0: Dünne Kahlhaut, Lösung wenig getrübt; Niederschlag: vergleiche Keimung (nach 4 Wochen); wenig Säure. NL I: Kahlhaut, Niederschlag, vergl. Keimung, Alkali. NL III: Feine Flocken in der Lösung, vergl. Keimung. NL IV: Lösung klar; sehr feiner körniger Niederschlag aus degenerierten Morphoden. NL V: Befund wie bei Lösung IV. NL V $\delta$ : Lösung milchartig getrübt, darin suspendiert weiße Wolken; mäßig dicker weißer Niederschlag aus Stäbchen, Degenerationsformen, kugelartigen Resten. NL VI: Dünner rötlichgelber Niederschlag aus degenerierten Morphoden, Säure. NL VII: Lösung klar. In II, V $\alpha$ , V $\beta$ , V $\gamma$ , VII, VIII, IX, X, XI keine Entwicklung.

Intensitätstabelle:

0	I	II	III	IV	V	V $\alpha$	V $\beta$	V $\gamma$	V $\delta$	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3—4	4	0	2—3	1	1—2	0	0	0	3—4	2—3	0	0	0	0	0

Säurebildung findet statt in NL VI, 0. Indikator: Rosolsäure 10 ccm NL VI = 0,4 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normal-HCl. Entwicklung in Lösung VI

bei 60° C 1) nach 8 Tagen 10 ccm = 2,2 ccm  $\frac{1}{10}$  NNaOH  
2) „ 14 „ 10 „ = 2,8 „  $\frac{1}{10}$  „

*B. robustus* bildete in 3 Wochen im Röhrchen Alkali in Lösung I, im Kölbchen dagegen nicht, trotz guter Entwicklung.

Reservestoffe: Glykogen. Diastasebildung in NL VI fehlt. Gasbildung findet nicht statt. Abtötungszeit der Sporen bei 100° 7 $\frac{1}{2}$ —8 Std.

Die wichtigsten Merkmale der Species *Bacillus robustus*  
A. M. et Blau.

Spore: Sporengröße 1,6—2,2  $\mu$  lang, 0,9—1  $\mu$  breit. Sporenform: normal (Fig. IIa 1, 2, 3, 4, 5), selten Fig. IIa 6, 7. Sporenmembran mit Fuchsin gefärbt, erscheint als feine rote Linie. Exine und Intine im allgemeinen weder ungefärbt noch gefärbt zu unterscheiden. Die Sporen

schwellen vor der Keimung wenig an. Die Keimung beginnt nach 3—3 $\frac{1}{2}$  Std., sie ist vorwiegend äquatorial. Die Sporenmembran wird von dem Keimstäbchen nach erfolgter Keimung bald abgeworfen. Die Keimstäbchen werden bis fast 2-lang und bis 1,2  $\mu$  breit. Auf  $\frac{1}{3}$  D Agar bei 60° C nach 3 $\frac{1}{2}$ —4 Std. finden sich fast ausschließlich Einzel- und Doppelstäbchen, einzellig, meist 1-lang, 1,1  $\mu$  breit. Nach 7 $\frac{1}{2}$  Std.: Glykogenspeicherung in vielen Stäbchen, verstreut Stäbe mit Sporenanlage. Nach 9 Std. reife Sporangien, stäbchen-, spindelförmig, seltener oval. Spore end- und bis mittelständig, parallel oder schief zur Sporangienwand. Nach 14 Std. Sporangien, Stäbchen, freie Sporen. In den Sporangien viel Glykogen, Schwärmzustand auf Agar beginnt bald nach der Keimung, dauert bis zur Sporangienbildung. Agarstrichkultur  $\frac{1}{3}$  D Agar: Die Kolonie wird 6—7 Std. nach der Impfung als durchscheinender, gelbweißer Streifen sichtbar. Nach 14 Std. zeigt sich die Kolonie als breiter, gelbweißer, homogener Belag mit feuchtglänzender Oberfläche. Kondenswasser getrübt.

Die Intensität des Wuchses in NL. 0, I, V $\alpha$  = 3 bis 4 und II, V $\alpha$ , V $\beta$ , V $\gamma$ , VII, VIII—XI = 0 ist charakteristisch. Möhrenkultur: Kaum Entwicklung in 6 Tagen vorhanden. Kartoffelscheibe: Nach 24 Std. Punktkolonien, weißgelb, feuchtglänzend, Oberfläche glatt. Nach 4 Tagen: mäßig dicke, weißliche Kolonie aus normalen und degenerierten Stäbchen. Säurebildung in NL. VI, 0. Reservestoffe: Glykogen. Diastasebildung: NL. VI fehlt. Gasbildung fehlt. Tötungszeit der Sporen bei 100° 7 $\frac{1}{2}$ —8 Std.

### **Bacillus tostus A. M. et Blau.**

Diese Species wurde von mir zweimal aus Erdproben, die einem Kartoffelacker im Süden Berlins entstammten, isoliert.

Die Sporen. Die Sporenform ist im allgemeinen ovoid (Fig. III a, 1, 3, 5, 7), doch kommen auch ellipsoide und sphäroide oder runde Sporen vor (Fig. III a 2, 11). Ferner finden sich, wenn auch seltener, Sporen, die an einem Pol stärker, am anderen verjüngt sind (Fig. III a, 8). Abweichende Sporenformen zeigt Fig. III a, 4. Die Pole der ovoiden Sporen sind im allgemeinen konvex, jedoch sind die Ecken bei manchen Sporen flacher. Weitere, zu den seltener vorkommenden Sporenformen gehörige, sind die walzenförmigen. Einige der ovoiden Sporen zeigten an einem Pole Zuspitzung (Fig. III a, 8). Die Membran der Sporen ist im allgemeinen ringsum gleichmäßig, bei größeren Sporen sieht man bisweilen Höckerchen auf derselben (Jod-Jodkali s) (Fig. III a, 13). Die Membran der Sporen ist kräftig, doch nicht von auffallender Stärke. Exine und Intine sind im allgemeinen ungefärbt nicht zu unterscheiden; jedoch auch ungefärbt oder mit Fuchsin 1 + 10 1 Oese auf 1 Oese Wasser lassen sich an größeren Sporen Exine und Intine mäßig deutlich unterscheiden. Die Intine ist ziemlich schmal. Größe der Sporen: Die ovoiden Sporen sind meist 2,0  $\mu$  lang und 1,4  $\mu$  breit; die kleinsten 1,5  $\mu$ :0,8  $\mu$ , die größten 2,2:1,6  $\mu$ . Die sphäroiden oder rundlichen Sporen zeigen die Verhältnisse 1,8:1,5  $\mu$ , die kleinsten 1,6:1,3  $\mu$ . Manche der 2 bis 4 Wochen alten Sporen tragen noch Reste des Sporangiums in Form eines unregelmäßigen sehr kurzen Stieles, zum Teil von Plasma erfüllt, an sich.

Da *B. tostus* auf  $\frac{1}{3}$  D Agar von schwach alkalischer Reaktion am besten gedieh, so wurde die Species auf diesem Substrat

kultiviert und so erhaltene Kulturen der folgenden Beschreibung zu Grunde gelegt.

**Die Keimung:** Bei einer Minute abgekochtem Sporenmaterial beginnt die Keimung auf  $\frac{1}{8}$  D Agar (alkal.) bei  $60^{\circ}$  C nach  $2\frac{3}{4}$ — $3\frac{1}{4}$  Std. Sie ist vorwiegend polar mit einseitigem Durchstoßen der Sporenmembran (Fig. III b, 1, 3). Einige Male beobachtete ich ferner polare Keimung mit beiderseitigem Durchstoßen der Polmembran, wobei die Membran das Keimstäbchen ringförmig umgab (Fig. III b, 2). Die Sporen schwellen vor der Keimung mäßig an (Fig. III b, 14). Die Keimstäbchen (1-lang =  $4,5$ — $5\mu$ ): Die Sporenmembran haftet den Keimstäbchen nur vorübergehend an. Schon nach  $3\frac{3}{4}$ — $4$  Std. findet man nur vereinzelt Keimstäbe oder Doppelstäbchen mit anhaftender Sporenmembran. Selten fand ich 4—5-stäbige Fäden, je einzellig, mit Sporenmembran am Endstäbchen. Die Keimstäbchen werden 1- bis nicht ganz 2-lang. Ihre Breite beträgt  $1,4$ — $1,5\mu$ . Sie sind gerade oder leicht gekrümmt. Ungefärbt und mit Methylenblau 1+10 gefärbt sind die Keimstäbchen homogen. Ihre Membran ist nicht auffallend stark. Die Pole sind abgeflacht (Fig. III c, 2, 3).

**Entwicklungsgang auf  $\frac{1}{8}$  D Agar (alkal.):** Nach  $3\frac{1}{2}$  Std. findet man außer zerstreuten keimenden Sporen meist 1—2 lange  $1,2$  bis  $1,3\mu$  breite Einzel- und Doppelstäbchen und viele 3—6-stäbige, meist 1- oder auch 2-zellige Fäden (Fig. III c, 1, 6). Außer den beschriebenen finden sich noch  $\frac{1}{2}$ - und bis 2- bis 3-lange Stäbe. Mit Methylenblau 1+10 gefärbt, erscheinen Stäbe und Fäden homogen. Die Stäbe sind meist gerade, einige leicht gekrümmt; ihre Endflächen sind abgeflacht, leicht abgerundet. Nach  $4\frac{1}{2}$ — $5$  Std.: Die Kultur besteht aus einem Gemisch von  $\frac{1}{2}$ —2-langen Einzel- und Doppelstäbchen und 3—5-stäbigen Fäden. Die Einzelstäbe sind einzellig, die Fadenstäbe ein- und zweizellig (Chlorzinkjod). Die Membran der Oidien ist von mittlerer Stärke.

Nach 8—9 Std. sind neben den Fäden, die jetzt zurücktreten, Einzel- und Doppelstäbchen vorherrschend. Diese sind zum Teil an einem Pole geschwollen, so daß sie Keulen- oder Trommelschlägelform zeigen (Fig. III c, 4, 6). Nach 13—14 Std. überwiegen die  $\frac{1}{2}$ —2-langen, meist  $1\frac{1}{2}$ -langen Einzelstäbe; Doppelstäbe und 3—6-stäbige Fäden treten zurück. Außerdem finden sich ziemlich viele cylindrische und keulige Stäbe mit Sporenanlage und mäßig viele reife Sporangien neben wenigen neuen Sporen, die meist noch Teile des Sporangiums mit Plasma an sich tragen (Fig. III d, 6). In den Stäben Glykogen. Nach 18 Std. hat die Zahl der Sporangien noch zugenommen; dieselben sind trommelschlägelförmig (Fig. III d, 2) oder keulenförmig (Fig. III d, 1), ferner stäbchenförmig (Fig. III d, 4), weniger häufig sind spindelförmige Sporangien (Fig. III d, 5). Meist finden wir Einzelsporangien, weniger Doppelsporangien. Die Sporen in den keuligen und stäbchenförmigen Sporangien liegen meist endständig, die in den trommelschlegel- und spindelförmigen bis mittelständig (Fig. III d, 1). An einigen Sporangien markiert sich dicht unterhalb der Spore ein heller Saum. Die Sporen liegen meist parallel zur Längswand des Sporangiums. Außer den Sporangien finden sich in diesem Stadium viele cylindrische und trommelschlägelförmige Einzelstäbe und mäßig viel Sporen. Stäbe und Sporangien weisen Glykogen auf (Fig. III d, 3). Die Sporangien sind sehr verschieden lang, die längsten  $7$ — $8\mu:1,5\mu$ , die kleinsten  $3,1\mu:1,1\mu$ , meist sind sie  $5\mu:1,3\mu$ . Nach 22—24 Std.: In diesem Stadium haben die Sporen an Zahl zugenommen; neben ihnen finden sich Sporangien aller Art

9\*

und cylindrische und keulige Einzel- und Doppelstäbe, die meist  $1-1\frac{1}{2}$ -lang und  $1,3\ \mu$  breit sind.

Die Sporen tragen zum Teil Reste des Sporangiums in Form einer unregelmäßigen, dünnen Plasmahülle, oft mit Teilen der Sporangienmembran, an sich, die sich mit Methylenblau 1+10 hellblau färben.

Nach 2—3 Tagen: Die Kultur besteht vorwiegend aus freien Sporen, deren etliche Reste der Sporangienmembran tragen, ferner aus Sporangien, Einzelstäben und Doppelstäben. Nach 4—5 Tagen: Es finden sich Sporen und nur wenig Membranreste.

Bezüglich der Beweglichkeit des *B. tostus* ist zu bemerken, daß der Schwärmzustand der Oidien bald nach der Keimung beginnt. Auch bei dieser Species sistiert das Schwärmen sofort bei jeder schnellen Temperaturerniedrigung. Die Geißelfärbung gelang nach 20—25 Min. langem Beizen und ebensolangem Färben mit Säureviolett (Fig. III e).

NB. Bei schwach sauerem oder schon bei amphoterem  $\frac{1}{8}$  D Agar findet man nach 22—24 Std. eine dünne, grauweiße Kultur, die aus homogenen Einzel- und Doppelstäben, die oft etwas verbreitert sind, besteht.

Agarstrich  $\frac{1}{8}$  D Agar: Nach 5—5 $\frac{1}{2}$  Std. wird die Kultur als feiner, milchartig grauweißer, breiter Streifen erkennbar. Nach 9 Std. ist die Kultur deutlich weißlichgrau, weniger durchsichtig. Nach 14 Std. erscheint die Kultur als breiter, mäßig dünner, weißgrauer bis gelbgrauer Strich mit glatt abgesetztem Rand, der verschiedentliche Läppchenbildung aufwies. Die Oberfläche der Kultur ist glatt und zeigt mäßig spiegelnden Glanz. Die Konsistenz ist weich, kaum schleimig, so daß sich Teile der Kultur leicht mit der Platinnadel abnehmen lassen. Das Kondenswasser ist schwach getrübt. Nach 20—24 Std.: Die Kultur bedeckt als gelbweißer Ueberzug einen großen Teil des Agars; der Belag ist feuchtspiegelnd, das Kondenswasser milchig getrübt. Nach 2—3 Tagen: Farbe der Kultur weißgelb bis grauweiß. Aeltere Kulturen sind porzellanähnlich, ihr Kondenswasser ist milchartig.

Agarstich: Nach 24 Std. bemerkt man eine weißgelbliche, feuchtglänzende Kolonie, die die ganze Agaroberfläche überzieht und als dünner Faden 5 mm in den Stichkanal hineinragt. Nach 3 Tagen hat die Kolonie im Stichkanal eine Länge von  $1\frac{1}{2}$  cm und trägt in einer Ebene streifenartig wenige, sehr kurze, härchenartige Fortsätze. Nach 14 Tagen: Die Kolonie reicht 2 cm tief in den Stichkanal als schmaler Faden hinein. Die haarartigen Seitenzweige reichen bis ca. 1 cm tief und sind sehr kurz. Nach 3 Wochen zeigt die Kultur dasselbe Aussehen wie nach 14 Tagen; die Oberflächenkolonie ist jetzt graugelb gefärbt.

Agarplatte: Nach 11—12 Std. bei 60° C zeigen sich auf der Oberfläche stecknadelkopfgroße und kleinere weiße bis weißgelbe Einzelkolonien. Dieselben sind im allgemeinen nahezu kreisrund und von mäßiger Dicke. Mikroskopisch erscheinen die Kolonien hellgelb bis gelbbraunlich. Ihr Rand zeigt nur wenige gelappte Ausbuchtungen und ist im übrigen gegen die Umgebung scharf abgesetzt. Das Zentrum der Kolonien läßt eine undeutliche Strichelung erkennen. Bei hoher Einstellung zeigte sich ferner öfter eine konzentrische Wellenzeichnung. Außer diesen Oberflächenkolonien zeigten sich in allen Schichten der Platte Kolonien, die häufig einen zusammenhängenden dünnen, mikroskopisch feinkörnigen Belag bilden, der makroskopisch als feiner grauer Schleier erscheint. Charakteristisch ist ein eigentümlicher unangenehmer Geruch. Nach 2 Tagen: Die Einzelkolonien sind wenig gewachsen, sie zeigen zum Teil am Rande protuberanzenähnliche, spitze, breitbasige

Austrahlungen. Ihre Farbe ist weiß bis porzellanartig; einige zeigen Dellenbildung. Nach 4—5 Tagen: Die Einzelkolonien sind etwas größer geworden. Der erwähnte Geruch ist noch immer deutlich bemerkbar. Die Tiefenkolonien bilden einen zusammenhängenden, grauen Belag. Kartoffelscheibe: *B. tostus* zeigte trotz mehrmaligen Impfens kein Wachstum. Möhrenscheibe: Nach 2 Tagen zeigten sich mehrere sehr kleine Punktkolonien, die im Laufe von 3 Wochen jedoch wieder zurückgingen.

#### Entwicklung auf 3 D Agar (amphoter):

Die Keimung erfolgte nach 8—10 Std. Nach 14—16 Std. zeigte sich die Kultur als breiter, sehr dünner, gelbbrauner Streifen. Die Kultur bestand fast ausschließlich aus meist normalen Einzel- und Doppelstäbchen, die 1—2-lang, je einzellig waren. Nach 20—24 Std.: Die gelblichbräunliche Kultur besteht noch immer aus Einzel- und Doppelstäben, ferner einigen 2—3-langen, unseptierten und septierten Fäden, die zum Teil körniges Plasma enthalten. Nach 3 Tagen: Die ziemlich dünne, gelbbraunliche Kultur zeigt dieselben Morphoden wie bisher, daneben ferner mäßig viel Sporen und reife Sporangien.

Entwicklungsgang in Nährlösungen: *B. tostus* keimt im allgemeinen langsam in NL 0, IV, unregelmäßig in NL IX.

In NL 0: Nach 4 Wochen: An der Oberfläche der Lösung flottieren bräunliche Flöckchen oder Brocken, die leicht bei Schütteln untersinken. Sie bestehen aus normalen 1—2-langen Einzel- und Doppelstäben und 3—5-stäbigen Fäden; einige der Stäbchen sind beweglich. Die Lösung ist nur wenig getrübt. Am Boden ein dünner bräunlicher Niederschlag aus Resten und Sporen; die Lösung riecht ähnlich wie saure Butter. In NL IV: Die Lösung zeigt feine Trübung, es finden sich die Morphoden wie bei NL 0: Alkali. In NL IX: Befund wie bei NL IV.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen: Das Wachstum ist nach 4 Wochen bei 60° C folgendes: N. 0: Auf der Lösung dünne Kahmhaut aus viel Membranresten, Stäben, 3—5-stäbigen Fäden, meist degeneriert. Die Lösung ist durch feine Flöckchen getrübt; es ist ein Bodensatz gebildet, der meist aus Resten und wenig normalen Sporen besteht; wenig Säure. — I: Befund wie 0; Bodensatz gelbbraunlich, etwas stärker als bei 0. — III Lösung ist fein getrübt, es finden sich meist Membranreste, wenig Stäbchen und Fäden. — IV: Befund wie bei III; Alkali. — Vα: Obenauf dünne weißgraue Kahmhaut, die aus Resten und mäßig vielen Einzel-, Doppelstäben und 3—6-stäbigen, normalen Fäden besteht; am Boden ein mäßiger, gelbbraunlicher Niederschlag wie bei 0; Säure. Vδ: An der Glaswand aufsteigender, feiner weißer Belag aus Resten und Sporen. Die Lösung ist klar. — IX: Denselben Belag zeigt Lösung IX. — In Lösung VI bildete sich unregelmäßig ein feiner weißer Niederschlag neben Trübung der Lösung. Er bestand zumeist aus degenerierten Morphoden; Säure.

Intensitätstabelle.

0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	4	0	1—2	2—3	1	3—4	0	0	2—3	2	0	0	2	0	0—1

Alkalibildung erfolgt in NL IV. Indikator, Dimethylamidoazobenzol. NL IV 10 ccm = 0,1 ccm  $\frac{1}{10}$  N-HCl. Entwicklung bei 60° in NL IV 1) nach 8 Tagen 10 ccm = 3,6 ccm  $\frac{1}{10}$  N-HCl; 2) nach 14 Tagen 10 ccm = 3,9 ccm  $\frac{1}{10}$  N-HCl.

Säurebildung erfolgt in NL VI, I, Vα. Indikator: Rosolsäure. NL VI: 10 ccm = 0,3 ccm N-NaOH. NL VI: Entwicklung bei 60° C 1) nach 8 Tagen 10 ccm = 2,3 ccm  $\frac{1}{10}$  N-NaOH; 2) nach 14 Tagen 10 ccm = 3,3 ccm  $\frac{1}{10}$  N-NaOH.

Reservestoffe: Glykogen, zumeist in 10—11-stündigen Kulturen.

Diastasebildung: In NL IV vorhanden. Ammoniakbildung in 4 Wochen in NL IV.

Gasbildung fehlt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 19—20 Std.



**Die wichtigsten Merkmale der Species *Bacillus tostus*  
A. M. et Blau.**

**Spore.** Sporengröße im Durchschnitt  $2\ \mu$  lang,  $1,4\ \mu$  breit, im übrigen  $1,5\text{--}2,2\ \mu$  lang,  $0,8\text{--}1,6\ \mu$  breit. Sporenform: meist ovoid, sphäroid bis rund (Fig. IIIa, 2, 11). Sporenmembran der größeren Sporen bisweilen mit Höckerchen. Exine und Intine im allgemeinen ungefärbt nicht zu unterscheiden, wohl aber bei Färbung mit Fuchsin in einzelnen Fällen. Die Intine ist schmal. Aeltere Sporen tragen öfter Sporangienreste an sich. Anschwellung der Sporen vor der Keimung mäßig. Auf  $\frac{1}{8}$  D Agar (alkalisch) bei  $60^{\circ}\text{C}$ : Keimung nach 3 Std. vorwiegend polar. Die Keimstäbchen werden nahezu 2-lang,  $1,4\text{--}1,5\ \mu$  breit, verlieren die Sporenmembran schnell. Nach  $3\frac{1}{2}$  Std.: 1—2-lange,  $1,2\ \mu$  breite Einzel- und Doppelstäbchen, viele 3—6-stäbige Fäden (Fig. IIIc, 1, 6). Nach 8—9 Std.: Neben den 3—6-stäbigen Fäden und cylindrischen Stäbchen jetzt keulige und trommelschlegelförmige Stäbchen vorhanden. Nach 14 Std. finden sich Stäbchen mit Sporenanlage, und reife Sporangien neben wenig neuen Sporen: Glykogen. Sporangien trommelschlagelförmig, keulig, stäbchenförmig, weniger spindelförmig. Es sind Einzelsporangien, Sporen end- und mittelständig. Schwärmzustand auf Agar beginnt bald nach der Keimung. Begeißelung peritrich. Agarstrichkultur: Kolonie wird sichtbar nach  $5\text{--}5\frac{1}{2}$  Std. Nach 14 Std. ist eine breite, mäßig dicke, weißgraue Kolonie mit spiegelnder Oberfläche entwickelt. Konsistenz weich, kaum schleimig. Aeltere Kulturen sind porzellanartig. Möhrenkultur: Kein Wachstum. Kartoffelscheibe: Kein Wachstum. Die Intensität des Wuchses in NL. 0, I, Va = 3—4 und II, V $\beta$ , V $\gamma$ , VII, VIII, X, XI = 0 ist charakteristisch. Alkalibildung in NL. IV. Säurebildung in NL. VI, I, Va. Reservestoffe. Glykogen, zumeist in 12-stündigen Kulturen. Diastasebildung in NL. IV vorhanden. Ammoniakbildung in NL. IV. Gasbildung fehlt. Abtötungszeit der Sporen bei  $100^{\circ}$  19—20 Std.

***Bacillus calidus* A. M. et Blau.**

Der *Bacillus* wurde von mir aus Erde, die von einem Felde bei Berlin stammte, auf der Agarplatte isoliert. Sporen: Die am häufigsten vorkommende Sporenform ist cylindrisch, mit einer Länge von  $1,8\text{--}1,9\ \mu$ , einer Breite von  $0,8\ \mu$  im Durchschnitt, mit konvexen Polen (Fig. IV a, 1, 2, 5, 6). Häufig finden sich ferner stäbchenförmige Sporen (Fig. IV a, 3, 4) mit einer Länge von  $2\ \mu$ , einer Breite von  $0,8\ \mu$ , und weiter ellipsoide bis ovide Sporen (Fig. IV a, 7—9), diese beiden Formen hauptsächlich in den Fadensporangien. Die kleinsten Sporen  $1,5:0,6\ \mu$ , die größten  $2,1:0,9\ \mu$ . Die ellipsoiden Sporen zeigen die Größenverhältnisse  $2,0:1,2$  und  $1,9:1\ \mu$ . Die Sporenmembran der kleineren Sporen erscheint nahezu glatt. Die Membran der größeren und größten Sporen läßt an der Oberfläche meist kleine spitze Wärzchen oder Höckerchen erkennen, etwa 2—4, die nach Behandlung der Sporen mit Safranin oder Jodjodkalium c noch etwas leichter erkennbar werden (Fig. IV a, 6—8). Diese Spitzchen kommen auch an den Querschnittbildern zum Ausdruck (Fig. IV a, 11). Letztere sind im allgemeinen rund, lassen jedoch auch ab und zu jene Spitzchen erkennen (Fig. IV a, 11). Exine und Intine ließen sich weder ungefärbt noch mit Methylenblau, Safranin und Fuchsin mit Bestimmtheit unterscheiden. Nur mit wenig verdünntem Jodjodkalium c gelang es mir, nach längerer Einwirkung des Farbstoffes eine undeutliche Differenzierung von Exine und Intine zu erreichen (Fig. IV a, 10). Die Intine erschien in einer



großen Spore als gelbliche Zone von mittlerer Breite. Keimung auf 3—D Agar. Die Anschwellung der Sporen vor der Keimung ist gering, 2,1 : 1,2  $\mu$  ca. (Fig. IV a, 12).

Da *B. calidus* auf 3-proz. Agar ohne Dextrose am besten wuchs, so liegen den folgenden Beschreibungen Kulturen auf 3—D Agar zu Grunde, falls nicht ausdrücklich etwas anderes vermerkt ist.

Die Keimung erfolgt bei 60° C auf 3—D Agar nach 3 $\frac{1}{2}$ —4 $\frac{1}{2}$  Std. Sie ist meist äquatorial (Fig. IV b, 1—3), doch kam auch polare Keimung vor (Fig. IV b, 4). Die Keimstäbchen (1-läng = 4,6  $\mu$ ). Die Sporenmembran haftet den Keimstäbchen eine Zeitlang an. So fand ich in 4 $\frac{1}{2}$ -stündigen Kulturen kurze, 3—4-stäbige, je 1- und 2-zellige Fäden, an deren einem Ende die leere Sporangienmembran haftete. In 7-stündigen Kulturen dagegen fand ich keine Stäbe oder Fäden mit Sporenmembran mehr vor. Die Keimstäbchen werden  $\frac{1}{2}$ - bis 1-läng, 0,8—1  $\mu$  breit (Fig. IV c, 1). Der Protoplast der Keimstäbchen erscheint ungefärbt homogen; Methylenblau 1+10, Fuchsin und Jodjodkalium s lassen keine weitere Differenzierung eintreten. Die Pole der Keimstäbchen sind mäßig konvex. Die Membran ist gleichmäßig zart.

Entwicklungsgang auf 3—D Agar: 5—6 Std. nach der Impfung sind außer meist 1-läng Einzel- und Doppelstäbchen viele 2—10-stäbige Fäden gebildet (Fig. IV d, 1, 2). Unter den Fäden bilden die 4—6-stäbigen, meist einzelligen, die Hauptmenge. Die Einzel- und Doppelstäbe sind meist 1—1 $\frac{1}{2}$ -läng, 1- und 2-zellig (Chlorzinkjod). Die Fadenstäbe sind oft etwas kürzer, meist 1-läng und 0,8—1  $\mu$  breit (Fig. IV d, 1). Außer diesen Morphoden finden sich in der Kultur normal breite, 3—4-lange, unseptierte Fäden in geringer Zahl. Die Membran der Stäbe ist zart. Am besten färbt sie sich mit Jodjodkalium s. Der Protoplast färbt sich mit Methylenblau 1+10 gleichmäßig blau. Nach 9—10 Std.: Vorherrschend sind jetzt neben den übrigen Morphoden 4—12-stäbige, 1- und 2-zellige Fäden, deren Stäbe meist 1-läng und 0,9  $\mu$  breit sind. Mit Methylenblau lassen sich in verschiedenen Fadenstäben Sporenanlagen und kleine Volutanskugeln (Fig. IV d, 1) nachweisen. Bei Färbung mit Jodjodkalium s treten stärkere oder schwächere braune oder braungelbe Bänder und Flecke von Glykogen hervor (Fig. IV d, 1). Nach 14 Std. bis 16 Std.: Vorherrschend sind Einzel-, Doppelstäbchen und Sporangien in längeren Fäden. Ferner finden sich ziemlich viele freie Sporen, mäßig viele Einzel-, Doppelstäbe und 6—8-stäbige Fäden. Die Länge der normalen Einzel- und Doppelsporangien beträgt 4,5—4,9  $\mu$ , die Breite 0,8—1  $\mu$  (Fig. IV e, 1). Die Sporen sind meist nahezu endständig (Fig. IV e, 1), doch kommen auch neben den normalen, cylindrisch-stabförmigen Sporangien solche vor, die in der Mitte schwach gebuchtet sind. Diese enthalten die Spore oft mittelständig (Fig. IV e, 3). Die Lage der Sporen zur Sporangienwand ist eine parallele. Unter den sporangienführenden Fäden sind die 5—6-stäbigen vorherrschend. Ungefärbt erscheinen die Sporangien homogen. Von Reservestoffen lassen sich Volutin als kleine oder größere Kugeln (Fig. IV e, 5) und Glykogen vor allem in jungen Sporangien nachweisen (Fig. IV e, 5, 2). Außer den Sporangien finden sich in diesem Stadium ziemlich viele Einzel-, Doppelstäbe und mehrstäbige Fäden, deren Stäbe meist gerade, an den Ecken abgerundete Pole zeigen (Fig. IV d, 1). Es finden sich ferner überall, wenn auch noch nicht in Massen, neugebildete Sporen, ohne Sporangienmembran. Nach 20—22 Std. finden sich vorherrschend reife Einzel- und Doppelsporangien und freie Sporen

neben den übrigen Morphoden, die hier zurücktreten. Außer den normalen Einzel- und Doppelstäben finden sich einzelne etwas verbreiterte Stäbchen. Im Kondenswasser finden sich neben Sporen und Sporangien viele 2—12- und mehrstäbige Fäden. Nach 24—26 Std. Die Hauptmasse der Kultur, namentlich der oberen Partien derselben, wird von freien Sporen gebildet, neben denen ferner viele Einzel- und Doppelsporangien zu finden sind; überall verstreut finden sich in geringer Zahl meist 1-lange, normale Einzel- und Doppelstäbe. Fäden finden sich wenige. Nach 40—44 Std. Im oberen, trockeneren Drittel der Agarfläche finden sich vorwiegend Sporen, daneben Einzel-, Doppelsporangien und solche in bis 6-stäbigen Fäden und ferner, in geringerer Menge, normale Doppelstäbe und Fäden. Auch in diesem Stadium lassen sich Glykogen und Volutin nachweisen. Im unteren Drittel der Agarfläche fanden sich neben vielen freien Sporen meist Einzel- und Doppelstäbe, von denen viele körniges Plasma enthielten und außerdem Plasma- und Membranreste. Nach 3 Tagen. Neben vielen Sporen finden sich normale, meist 1-lange und ferner degenerierte Stäbe und Fadenstücke. Nach 4 und mehr Tagen. Neben Sporen viele Reste von Stäben, ferner mäßig viel „Kugeln“, die ähnlich denen bei *B. cylindricus* sind.

Die Beweglichkeit. Das Schwärmen der Oidien beginnt kurze Zeit nach der Keimung und läßt sich auch noch in 2—3-tägigen Kulturen, wenn auch nicht häufig, beobachten. Ueberhaupt sistierte die Schwärmbewegung bei jeder kürzeren oder längeren Temperaturerniedrigung sofort. Ferner reduziert die schon nach 5 Std. vorhandene Fadenbildung die Zahl der Schwärmoidien. Die Bewegung war eine pendelnde. Die Geißelfärbung gelingt nach 10—20 Min. langem Beizen und ebenso langem Färben mit Säureviolett, unter wiederholtem schwachem Erwärmen. Die Begeißelung ist peritrich. Die Geißeln sind ziemlich lang (Fig. IV f).

Agarstrichkultur 3—D Agar: Nach 10—11 Std. beginnt die Kultur sich als sehr feiner, hauchartiger Belag in Form eines Streifens auf der Agarfläche zu markieren. Die Kultur ist nahezu farblos durchscheinend. Nach 12—13 Std. ist der Streifen schon deutlicher, seine Oberfläche beginnt stumpfes Aussehen zu zeigen. Nach 16 Std. überzieht die Kultur als dünner, gelbgrauer oder auch weißgrauer Belag einen größeren Teil der Agarfläche. Die Oberfläche dieser Kultur ist meist von charakteristisch stumpfem Aussehen. Charakteristisch sind ferner die am oberen Rande der Kultur vorhandenen eisblumenartigen Ausstrahlungen, die ihre weitere Erörterung bei der Agarplatte finden sollen. Die Kultur ist mit der Platinnadel leicht abnehmbar. Das Kondenswasser ist leicht getrübt. Nach 24 Std. überzieht die Kultur nahezu die ganze Agarfläche; das Kondenswasser enthält einen feinen, geringen Niederschlag. Nach 48 Std.: Die stumpfe Kolonie zeigt grauweiße Färbung. Der Niederschlag im Kondenswasser hat zugenommen. Im unteren Drittel der Kultur macht sich öfter eine feinkörnige Beschaffenheit der Oberfläche bemerkbar. Nach 3 bis 4 Tagen: Die Kolonie ist dünn, von gelbweißlicher Farbe. Im Kondenswasser Trübung und Flöckchen. Nach 4 und mehr Tagen: Die Kultur bildet einen stumpfen, weißlich-grauen Belag.

Agarstich: Nach 24 Std. fand sich eine, die ganze Agarfläche überziehende, gelbweiße Oberflächenkolonie. Von ihr aus zog sich ein feiner, zweigloser Faden 2 mm in den Stich hinein. Nach 6 Tagen. Der Koloniefaden im Stichkanal zeigt dasselbe Aussehen wie nach

24 Std.: Zweige sind nur andeutungsweise zu erkennen. Nach 3 Wochen zeigt die Sticksolonie noch immer das gleiche Aussehen wie nach 1 Woche.

**Agarplatte:** Nach 14—15 Std. zeigen sich makroskopisch Kolonien von ca. 1—3 mm im Durchmesser, von weißgrauer Farbe und von runder Gestalt. Der Rand der Kolonien zeigt unregelmäßige Spitzen und Ausläufer. Mikroskopisch erscheinen die Kolonien in den Randpartien hellgelb durchscheinend, in der Mitte gelbbraun. Das Zentrum weist undeutlich körnige Struktur auf, die Randpartien wellige, parallel angeordnete Fadenstruktur oder feine Strichelung. Die Ausläufer der Kolonien erscheinen mikroskopisch als dickere, schlangenartig gewundene und verschlungene Fäden oder als feine, gewellte, haarartige Fädchen. Die Ränder der Kolonien sowohl wie die der Ausläufer sind scharf abgesetzt. Nach 24 Std. haben sich die Kolonien im ganzen etwas vergrößert, ihre Ausstrahlungen zeigen jetzt ein charakteristisches, eisblumenartiges Aussehen, die Farbe der Kolonie ist weißgrau, ähnlich der von Eisblumen auf Glasscheiben; die Oberfläche der Kolonien ist stumpf. Außer diesen Oberflächenkolonien zeigen sich solche in verschiedenen Tiefen der Platte, diesen fehlen im allgemeinen die charakteristischen Fortsätze. Nach 2—3 Tagen haben die Kolonien an Ausdehnung zugenommen, so daß sie vielfach ineinander übergehen, zeigen aber im übrigen das oben beschriebene Aussehen. Es macht sich schon nach 1—2 Tagen ein eigentümlicher, saurer Leimgeruch der Kultur bemerkbar. **Möhrenscheibe:** *B. calidus* zeigte in 3 Wochen keinerlei Wachstum. **Kartoffelscheibe:** Trotz Wechsels des Substrates erfolgte in 3 Wochen kein Wachstum, bei Impfung mit Sporen oder jungem Oidienmaterial.

**Entwicklungsgang auf 3 D Agar.** *B. calidus* zeigt auf diesem Substrat eine mangelhafte Entwicklung. Nach 15—17 Std. ist noch keine Koloniebildung eingetreten; es fanden sich neben einzelnen Sporenkeimungen meist normale, ungekeimte Sporen auf der Agaroberfläche. Nach 24 Std. hat eine sehr schwächliche Koloniebildung in Form eines sehr feinen, hautartigen, agarfarbenen Striches begonnen. **Mikroskopischer Befund:** Die Kultur besteht aus vielfach geknickten und gekrümmten, oft von körnigem Plasma erfüllten, dünnen Fäden, teils septiert, teils unseptiert, häufig stäbig degenerierten Einzel- und Doppelstäben und Plasma- und Membranresten. An ziemlich vielen Fäden ließ sich an einem Ende noch die leere, anhaftende Sporenmembran nachweisen. Nach 2—3 Tagen neben den bisherigen Morphoden einige normale, homogene Stäbe und mäßig lange, stäbige Fäden. Nach 4—5 Tagen: Im oberen Drittel finden sich Sporen, Einzel-, Doppelsporangien und stäbige, normale Fäden. Im übrigen zeigt die Kultur das obige Aussehen, außer den Resten finden sich jetzt mäßig viel „Kugeln“ und Reste von solchen.

#### Entwicklungsgang in Nährlösungen.

a) Bei voller Konzentration der Nährlösungen keimt *B. calidus* nur in Lösung VI, und zwar unregelmäßig innerhalb 3 Wochen. Nach 4 Wochen hat sich ein sehr feiner, weißer Niederschlag aus feinen Flöckchen gebildet, der aus degenerierten Fäden, Einzel- und Doppelstäben besteht.

b) Bei Verdünnung aller Nährlösungen, 1 ccm Lösung auf 4 ccm Wasser, zeigt sich folgendes: *B. calidus* keimte in NL. 0, I, IV, V, V<sub>8</sub>:

Nach 4 Wochen: NL. 0: Die Lösung ist getrübt; es hat sich ein dünner, grauer Niederschlag aus schlanken, zum Teil mehrstäbigen, zum Teil unseptierten Fäden, die auch oft degeneriert sind, gebildet. NL. I zeigt dasselbe Verhalten wie NL. 0.

NL. IV: Die Lösung ist milchig getrübt, sie enthält wenige Fäden und Stäbchen, oft degeneriert, Alkali. NL. V: Die Lösung ist klar, am Boden ziemlich dicker, weißer Niederschlag wie bei 0. NL. V $\alpha$ : Lösung klar, am Boden des Röhrchens dünner, flockiger, grauer Niederschlag, der sich beim Schütteln leicht als Flöckchen erhebt; stäbige Fäden, oft mit granuliertem Plasma.

*B. calidus* als Sporenmaterial im Erlmeyer-Kölbchen in verdünnter Nährlösung I angesetzt, zeigt Keimung und auffallend gutes Wachstum: *B. calidus* keimt, wächst und bildet Sporen innerhalb 8 Tagen. Nach 8 Tagen bei 60° ist die Lösung stark getrübt, sie enthält ziemlich viel Sporen neben Degenerationsformen. Auffallend ist ein eigentümlicher Geruch, den die Lösung ausströmt.

#### Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen.

a) Bei voller Konzentration der Lösungen zeigt *B. calidus* trotz wiederholten Impfens kein Wachstum.

b) In 1:4 verdünnten Nährlösungen zeigte *B. calidus* nach 4 Wochen Wachstum in folgender Weise: NL. 0: Lösung wenig getrübt, im übrigen Befund wie bei dem Keimungsversuch in verdünnter NL. 0. — NL. I: Auf der Oberfläche Teile einer feinen weißgrauen Kahlhaut, die aus Degenerationsformen und wenigen Sporen besteht. Die Lösung ist getrübt. Am Boden mäßig dicker, gelbbraunlicher Bodensatz aus degenerierten Morphoden. NL. IV: Befund wie bei der Keimung; Alkali. N. L. V: In der Lösung treiben sehr feine Partikel, die aus meist normalen, stäbigen Fäden und wenigen Sporen bestehen. NL. V $\alpha$ : Befund wie bei IV—XI; Lösung schwach weißlich getrübt, darin einzelne 3—8-stäbige Fäden, ferner viel Degenerationsformen. Keine Entwicklung in II, III, V $\alpha$ , V $\beta$ , V $\gamma$ , VI, VII, VIII, IX, X.

Intensitätstabelle für 1:4 verdünnte Nährlösungen:

0	I	II	III	IV	V	V $\alpha$	V $\beta$	V $\gamma$	V $\delta$	VI	VII	VIII	IX	X	XI
2—3	3	0	0	1	3—4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1—2

Alkalibildung nur im Reagensglas in NL. IV.

Reservestoffe: Glykogen und Volutin. Diastasebildung in NL. IV nicht vorhanden. Gasbildung findet nicht statt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 7½—8 Std.

#### Die wichtigsten Merkmale des *Bacillus calidus* A. M. et Blau.

Sporen: Sporengröße 1,5—2,1  $\mu$  lang, 0,6—1,2  $\mu$  breit. Sporenform cylindrisch, stäbchenförmig, ellipsoid oder ovoid. Sporenmembran der kleineren Sporen glatt, die der größeren mit kleinen, spitzen Wärschen. Exine und Intine sind weder ungefärbt, noch mit Methylenblau, Safranin, Fuchsin mit Bestimmtheit zu unterscheiden. Anschwellung der Sporen vor der Keimung gering. Die Keimung bei 60° C auf 3 % D Agar ohne Dextrose (3—D Agar) erfolgt nach 4 Std. Sie ist meist äquatorial. Die Keimstäbchen werden bis 1-lang und bis 1  $\mu$  breit. Die Sporenmembran haftet den Keimstäbchen eine Zeit lang an. Auf 3—D Agar bei 60° C: Nach 5—6 Std. meist 1-lange Einzel- und Doppelstäbe und viele bis 10-stäbige Fäden. Nach 9—10 Std.: vorwiegend 4—12-stäbige Fäden, zum Teil mit Sporenanlage, viele mit kleinen Volutinkugeln und Glykogen. Nach 14 Std. vorherrschend Einzel-, Doppelsporangien und solche in längeren Fäden, außerdem freiliegende Sporen. Die Sporen in den Sporangien meist nahezu endständig. Nach 40 Std.: vorwiegend freie Sporen neben Sporangien. Die Beweglichkeit: Das Schwärmen der Oidien beginnt kurze Zeit nach der Keimung und läßt sich auch noch in 3-tägigen Kulturen beobachten. Begeißelung peritrich. Agarstrichkultur: Die Kultur wird sichtbar nach 10 bis 11 Std. Nach 16 Std. weißgrauer Belag, dünn, Oberfläche stumpf, am oberen Rand der Kultur eisblumenartige Ausstrahlungen. Kondens-

wasser getrübt. Aeltere Kulturen dünn, gelbweiß bis weißgrau, Oberfläche stumpf. Die Intensität des Wuchses in den NL. (1:4 verdünnt): I, V, 3—4, II, III, V $\beta$ —V $\gamma$ , VI—X = 0 charakteristisch.

Möhrenkultur. Kein Wachstum. Kartoffelscheibe. Kein Wachstum. Diastasebildung in NL. IV nicht vorhanden. Reservestoffe: Glykogen und Volutin. Gasbildung fehlt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 8 Std.

---

Untersuchungen über die Maxima für Sporenkeimung, Oidienwachstum und Sporenbildung der vier von mir bearbeiteten Species:

*B. robustus*, *calidus*, *cylindricus*, *tostus*.

Als Nährsubstrat wurden bei diesen Versuchen benutzt: 6-proz.  $\frac{1}{3}$  D Agar für *B. robustus*, *cylindricus*, *tostus*; 6-proz.  $\frac{1}{3}$ —D Agar für *B. calidus*.

Versuch bei 65° C.

a) von 30 Sek. gekochtem Sporenmaterial ausgehend.

Befund nach 24 Std. *B. robustus*: Kolonie aus Einzel-, Doppelstäbchen, Sporangien, freien Sporen, viel Resten. *B. calidus*: Kolonie aus Fäden, Sporangien, Sporen. *B. cylindricus*: Kolonie aus Stäbchen, Sporangien, Sporen, Kugeln.

Versuch bei 67° C.

a) von Sporenmaterial ausgehend:

Befund nach 24 Std. *B. robustus*: Keine Kolonie, normale und degenerierte Sporen. Die übrigen 3 Species haben Sporen gebildet. — Nach 192 Std. *B. robustus*: Keine Kolonie, degenerierte Sporen und wenige degenerierte Keimstäbchen.

b) von Oidienmaterial (10-stündig) ausgehend:

Befund nach 24 Std. *B. robustus*: Es hat sich ein dünner Ueberzug aus meist degenerierten Stäbchen gebildet. — Nach 192 Std.: Kein Wachstum vorhanden.

Versuch bei 70° C.

a) von Sporenmaterial ausgehend:

Befund nach 24 Std. *B. robustus*: Keimt nicht und wächst nicht bei 70° C. Die übrigen 3 Species haben Sporen gebildet.

Versuch bei 73° C.

a) von Sporenmaterial ausgehend:

Befund nach 24 Std. *B. calidus*: Meist ungekeimte, zum Teil degenerierte Sporen, wenige degenerierte Keimstäbchen, keine Kolonie. *B. cylindricus*: Dünne Kolonie aus normalen und degenerierten Stäbchen und ferner Kugeln. *B. tostus*: Mäßig dünne, weiße Kolonie aus Stäbchen, Sporangien, wenigen Sporen. In den Sporangien wenig Glykogen.

Nach 96 Std. *B. calidus*: Keine Kolonie, meist degenerierte Morphoden. *B. cylindricus*: Befund wie nach 24 Std., doch mehr Reste und Kugeln. *B. tostus*: Sporangien, Sporen etc. sind gebildet.

## b) von Oidien ausgehend.

Befund nach 24 Std. *B. calidus* zeigt kein Wachstum.

Nach 120 Std. *B. calidus*: Keine Koloniebildung, Morphoden degeneriert.

## Versuch bei 74° C.

## a) von Sporenmaterial ausgehend:

Befund nach 24 Std. *B. cylindricus*: Ungekeimte und degenerierte Sporen, wenige degenerierte Keimstäbchen, keine Kolonie. *B. tostus*: Dünne, weißgelbliche, kränkliche Kolonie, die vorwiegend aus normalen Einzel-, Doppelstäben, 3—4-ständigen Fäden und ziemlich vielen degenerierten Stäben besteht.

Nach 72 Std. *B. cylindricus*: Keine Kolonie. *B. tostus*: Kolonie wie nach 24 Std., jedoch mehr Reste von Membranen etc.

## b) von Oidienmaterial ausgehend:

Befund nach 72 Std. *B. cylindricus*: Kein Wachstum. Morphoden degeneriert.

## Versuch bei 75° C.

## a) von Sporenmaterial ausgehend:

Befund nach 24 Std. *B. tostus*: Meist ungekeimte, wenige gekeimte Sporen, keine Kolonie. Nach 72 Std. keine Kolonie, degenerierte Sporen und Membranreste.

## b) von Oidien ausgehend:

Befund nach 72 Std. *B. tostus* zeigt kein Wachstum.

Zu allen diesen Versuchen wurden Kontrollversuche bei 60° C gemacht.

Die Maxima liegen also hiernach:

für die 4 Species	für Sporenkeimung	Wachstum	Sporenbildung bei
<i>B. robustus</i>	zwischen 65 u. 67° C	65—67° C	65—67° C
„ <i>calidus</i>	„ 70 „ 73° „	70—73° „	70—73° „
„ <i>cylindricus</i>	„ 73 „ 74° „	73—74° „	70—73° „
„ <i>tostus</i>	„ 74 „ 75° „	74—75° „	73—74° „

Untersuchungen über die Temperaturminima der vier von mir isolierten Species:

Für jede Species wurde derjenige Agarnährboden gewählt, auf welchem sie bei 60° am besten gedieh, also für

<i>B. robustus</i>	$\frac{1}{8}$ D Agar
„ <i>calidus</i>	3—D Agar
„ <i>cylindricus</i>	$\frac{1}{8}$ „
„ <i>tostus</i>	$\frac{1}{8}$ „ (alkal.).

Die angestellten Versuche ergaben, daß alle Species bei 45° C keimten (langsamer als bei 60°), wuchsen und wenig Sporen bildeten.

## Versuche bei 40° C.

Mit Sporenmaterial: Befund nach 24 Std. *B. robustus*: zeigt gutes Wachstum mit Sporenbildung. *B. calidus*: Meist ungekeimte Sporen, ebenso *B. cylindricus* und *B. tostus*. Nach 48 Std. *B. calidus*: Keimende und ungekeimte Sporen, Stäbchen, viele lange, stäbige Fäden. *B. cylindricus*: Dünne, kleine Kolonie aus Stäbchen und längeren und kürzeren, zum Teil unseptierten Fäden. *B. tostus*. Meist ungekeimte, wenige keimende Sporen. Nach 144 Std. *B. cali-*

aus: Punktkolonie aus langen, verschlungenen, stäbigen oder unseptierten Fäden. *B. cylindricus*: Kleine, rundliche, agarfarbene Kolonien aus Stäbchen, längeren Fäden, Kugeln, wenig Sporen. *B. tostus*: hauchartige Kolonie aus meist verschmälerten Stäbchen, mäßig langen stäbigen oder unseptierten Fäden, wenig Sporangien, Sporen.

#### Versuche bei 35° C:

a) Mit Sporenmaterial: *B. robustus* keimt, wächst langsam, bildet dabei Schwellformen; eiförmige bis kugelige Sporangien werden in 72–96 Std. gebildet. *B. calidus*, *cylindricus*, *tostus* keimen nicht in 72 Std.

b) Mit Oidienmaterial: Befund nach 96 Std.: *B. calidus* wächst nicht und bildet keine Sporen. *B. cylindricus*: Eine Punktkolonie, Befund wie bei 40°, nach 48 Std., keine Sporen. *B. tostus* zeigt kein Wachstum.

#### Versuche bei 28° C:

*B. robustus* keimt, zeigt schwaches Wachstum mit starker Schwellformbildung und schwacher Sporangien- und Sporenbildung in 120–144 Std. Die anderen 3 Species keimen und wachsen nicht.

#### Versuche bei 18° C:

*B. robustus* zeigt weder Sporenkeimung noch Oidienwachstum. Die Minima liegen hiernach also:

für die 4 Species:	für Sporenkeimung,	Wachstum,	Sporenbildung bei
<i>B. robustus</i>	zwischen 18–28° C und	18–28° C und	18–28° C
„ <i>calidus</i>	„ 35–40° „	35–40° „	40–45° „
„ <i>cylindricus</i>	„ 35–40° „	30–35° „	35–40° „
„ <i>tostus</i>	„ 35–40° „	35–40° „	35–40° „

Einteilung der von Professor Arthur Meyer und seinen Schülern, Gottheil (1901), Neide (1903) und mir, untersuchten Species der Gattung *Bacillus* nach den Maxima der Sporenkeimung und den Sporentötungszeiten bei 100° C, zum Zwecke der Bestimmung der Species:

#### Maxima der Sporenkeimung:

Bakterien mit einem Maximum der Sporenkeimung

zwischen 30° und 35° C:	<i>B. mycoides</i> , <i>B. robur</i> ;
„ 40° „ 45° „	„ <i>asterosporus</i> , <i>fusiformis</i> , <i>lactis</i> , <i>lacticola</i> , <i>alvei</i> ;
„ 45° „ 50° „	„ <i>sphaericus</i> , <i>Megatherium</i> , <i>pumilus</i> , <i>ruminatus</i> , <i>graveolens</i> , <i>tumescens</i> , <i>silvaticus</i> , <i>Petasites</i> ;
„ 50° „ 55° „	„ <i>parvus</i> ;
„ 55° „ 60° „	„ <i>subtilis</i> ;
„ 65° „ 70° „	„ <i>robustus</i> , <i>calidus</i> ;
„ 70° „ 74° „	„ <i>cylindricus</i> , <i>tostus</i> .

#### Maximale Sporentötungszeit bei 100° C:

1– 6 Min.:	<i>B. Ellenbachensis</i> , <i>Carotarum</i> , <i>simplex</i> , <i>fusiformis</i> , <i>pumilus</i> , <i>tumescens</i> , <i>asterosporus</i> ;
5– 10 „	„ <i>asterosporus</i> , <i>pumilus</i> , <i>Petasites</i> , <i>sphaericus</i> , <i>mycoides</i> ;
9– 14 „	„ <i>teres</i> , <i>parvus</i> ;
13– 18 „	„ <i>teres</i> , <i>parvus</i> , <i>Megatherium</i> , <i>silvaticus</i> ;
17– 22 „	„ <i>silvaticus</i> , <i>lacticola</i> ;
21– 26 „	— —
25– 30 „	— —
29– 34 „	<i>B. robur</i> , <i>lactis</i> ;
33– 38 „	„ <i>robur</i> , <i>lactis</i> ;
175– 180 „	„ <i>subtilis</i> ;
450– 480 „	„ <i>robustus</i> , <i>calidus</i> ;
	„ <i>cylindricus</i> ;
1140–1200 „	„ <i>tostus</i> .

**Tafelerklärung.**

Vergrößerung 1:2350. Abweichungen sind jedesmal besonders bemerkt. In den Zeichnungen der Stäbchen bedeuten die dunklen Punkte Volutinkörnchen, die schattierten Stellen Glykogen (z. B. Fig. IV d<sub>1</sub>). In dem Schema für die Morphologie der Fäden und Oidien, wie Fig. IV d<sub>2</sub>, bedeuten die Bogen Stäbchenenden, die Striche Septen.

I. *Bacillus cylindricus*: a) Sporen. Normal 1–10, 12–15, 17. Ausnahmen 11, 17. Querschnitt 18, 18a. Anschwellung vor Keimung 19. 1–4 ungefärbt, 5, 8, 9 Jodjodkali k; 6, 7, 10–17 Methylenblau k, 18, 18a Fuchsin v. b) Keimung äquatorial 1–5: 1, 2 Methylenblau 1+10, 3–5 ungefärbt. c) 6–7-stündige Kultur: 1–4 ungefärbt, 5, 6 Methylenblau 1+10, 7 Jodjodkalium s; 8 Fuchsin v. d<sub>1</sub>) 10-stündige Kultur, Methylenblau 1+10. f) 16–18-stündige Kultur. 1 Methylenblau 1+10, 2, 3, 5, 6, 7 ungefärbt, 4 Jodjodkalium s. g) Geißelfärbung: g<sub>1</sub> eines Oidiums, g<sub>2</sub> eines Sporangiums. k) „Kugeln“ aus einer 12–14-stündigen Kultur, 1–3 ungefärbt, 4 Jodjodkalium s.

II. *Bacillus robustus*: a) Sporen. Normal 1–6, Ausnahme 7. Querschnitt 8. 1, 3, 5, 7, 8 ungefärbt; 2, 4 Fuchsin v; 6 Methylenblau k. b) polare Keimung 1, 2, äquatoriale Keimung 3: 1, 3 ungefärbt, 2 Jodjodkalium s. c) 5–6-stündige Kultur: 1, 3 ungefärbt, 2 Jodjodkalium s, 4 Methylenblau 1+10. d) Sporangien aus einer 12-stündigen Kultur: 1, 2, 3 ungefärbt, 4, 5, 6 Methylenblau 1+10. e) Geißelfärbung.

III. *Bacillus tostus*: a) Sporen normal 1–3, 5–11; abweichende Formen 4, 12, 13. Anschwellung vor Keimung 14: 1–3 Methylenblau 1+10; 4–9 Fuchsin 10–14 ungefärbt. b) Keimung 1, 3 polar; 2 bipolar, 1, 2, 3 ungefärbt. c) 5-stündige Kultur: 1–3 ungefärbt, 4–6 Methylenblau 1+10. d) Sporangien 1, 2, 4, 5 ungefärbt, 3 Jodjodkalium s. e) Geißelfärbung.

IV. *Bacillus calidus*: a) Sporen. Normal 1–8, 10, abweichende Form 9. Querschnitt 11. Spore vor Keimung 12: 1–5, 7 ungefärbt, 6, 8 Safranin, 9, 10 Fuchsin, 11 Jodkalium s. b) 1–3 äquatoriale Keimung, 4 polare Keimung, 1–3 ungefärbt, 4 Safranin. c) 5–6-stündige Kultur: 1 ungefärbt, 2, 3 Methylenblau 1+10. d) 8-stündige Kolonie: 1 Jodjodkalium, 2 = Maßstab 1:900 ungefärbt. e) Sporangien 1, 3, 4 ungefärbt, 2, 5 Methylenblau 1+10. f) Geißelfärbung.

**Literatur.**

- Behrens, Untersuchungen über Konservenverderber. (Bericht d. Gesellsch. Badisch. Landwirtsch. Versuchsanstalt Augustenburg über Tätigkeit derselben. 1903. p. 35.)  
 Catterina, Beitrag zum Studium der thermophilen Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 353.)  
 Certes et Garrigon, Comptes rend. de l'Académie des Sciences. T. LIII. 1886. p. 703.  
 Christen, Mitteilungen aus den Kliniken der med. Institute der Schweiz. 1895. (nur Ref. geles.)  
 Cohn, Ueber thermogene Bakterien. (Berichte der Deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XI. p. 66.)  
 Dannappel, Inwieweit ist die höhere Widerstandsfähigkeit der Bakteriosporen ein allgemeines Charakteristikum derselben gegenüber den vegetativen Spaltpilzformen. Dissertation; Königsberg. Bakter. Institut. 1899.  
 Ellis, D., Beiträge zur Kenntnis der Coccaceen und Spirillaceen. (Centralbl. f. Bakter. Abt. I. Bd. XXXIII. p. 1.)  
 v. Esmarch, Desinfizierende Wirkung des strömenden überhitzten Dampfes. (Zeitschr. f. Hygiene. 1888. p. 200.)  
 Flügge, C., Die Mikroorganismen. 1896.  
 Globig, Ueber Bakterienwachstum bei 50–70°. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. III. 1888. p. 294.)  
 — Ueber einen Kartoffelbacillus mit ungewöhnlich widerstandsfähigen Sporen. (Zeitschr. f. Hyg. 1888. Bd. III. p. 322.)  
 Gottheil, O., Botanische Beschreibung einer Anzahl sporenbildender Bakterien. (Dissertation Marburg, 1901 u. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901.)  
 Günther, K., Einführung in das Studium der Bakteriologie. Leipzig 1898.  
 Karliński, Ueber thermophile Bakterien in Thermalquellen. (Hyg. Rundschau. Bd. VI. 1896. p. 1904.)  
 Kedzior, Ueber eine thermophile Cladotrix. (Archiv. f. Hyg. 1896. Bd. XVII. p. 328.)  
 Kehler, Ueber Methoden zur Sterilisation von Erdboden und Pflanzensamen und über zwei neue thermoresistente Bakterien. Dissertation Königsberg, 1904.  
 Kollé und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 1903.



Plate 1 displays 19 figures (1-19) illustrating the life cycle of the parasite. The figures show various stages, including eggs, larvae, and adults, arranged in a single row. Figures 1-4 show early developmental stages, 5-10 show intermediate stages, and 11-19 show later stages, including mature forms and eggs.

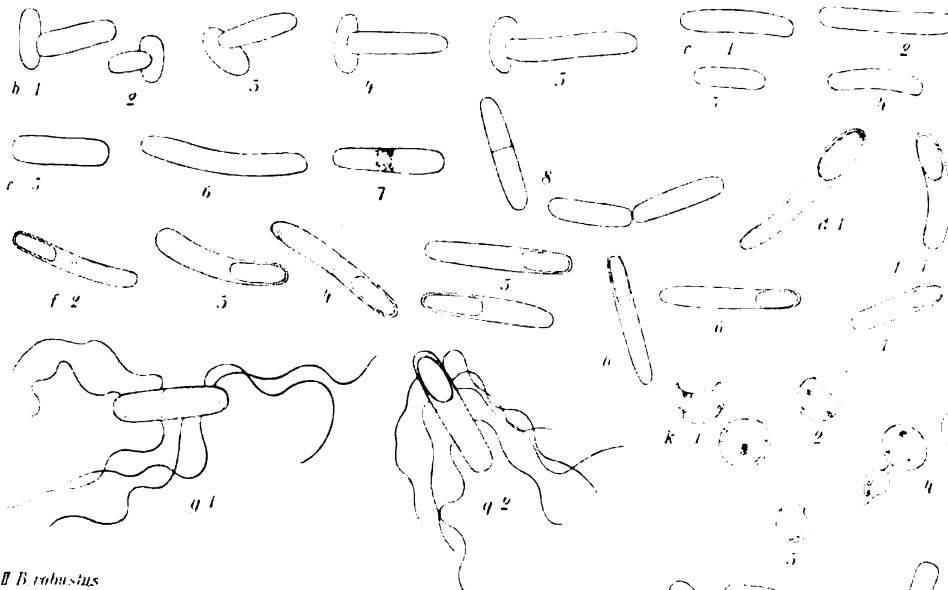


Figure 1 consists of four panels of line drawings. Panel (a) shows eight cercariae, which are elongated, oval-shaped organisms with a small tail-like structure at one end. Panel (b) shows six trophozoites, which are elongated, oval-shaped organisms with a distinct internal structure. Panel (c) shows five metacercariae, which are elongated, oval-shaped organisms with a distinct internal structure. Panel (d) shows four encysted forms, which are elongated, oval-shaped organisms with a distinct internal structure.

*N. B. calidus*

*Mst. l. 2550*

Mst. 1.25.50

 $M_{\text{ST}} = 1.70 m$ 

Fig. 1

V. A. Kuznetsov, L. A. Kuznetsova, and  
V. A. Gerasimov



- Laxa, Ueber einen thermophilen Bacillus aus Zuckerfabrikprodukten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 362.)
- Macfadyen und Blaxall, Thermophilic bacteria. (Journal of Pathology a. Bacteriology. 1894. Vol. III. No. 1. p. 87—99.)
- Meyer, Arthur, Ueber Geißeln, Reservestoffe, Kern- und Sporenbildung der Bakterien. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899.)
- Studien über die Morphologie und die Entwicklungsgeschichte der Bakterien. (Flora. Bd. LXXXIV. Ergbd. 1892.)
- Neues über die Morphologie der Bakterienzelle und die Entwicklungsgeschichte der Bakteriensporen. (Sitzungsber. d. Gesellsch. z. Beförd. d. Naturwissenschaften. Marburg. 1897.)
- Praktikum der botanischen Bakterienkunde. 1903.
- Michaelis, Beiträge zur Kenntnis der thermophilen Bakterien. (Archiv f. Hygiene. Bd. XXXVI. 1899. p. 285.)
- Miquel, Monographie d'un bacille vivant au-delà de 70 centigrades. (Annal. d. Micrograph. 1888. An. I. p. 4—10.)
- Neide, E., Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 1.)
- Oprescu, Studien über thermophile Bakterien. (Archiv f. Hygiene. 1898. Bd. XXXIII. p. 164.)
- Rabinowitsch, L., Ueber die thermophilen Bakterien. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XX. 1895. p. 154.)
- Sames, Th., Bei höherer Temperatur wachsende Bakterienarten. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXIII. 1900. p. 313.)
- Schillinger, Ueber thermophile Bakterien. (Hygien. Rundschau. Bd. VIII. 1898. p. 568.)
- Teich, Beitrag zur Kenntnis der thermophilen Bakterien. (Hygien. Rundschau. 1896. p. 1904.)
- Van Tieghem, Sur des bactériacées vivant à la température de 74°. (Soc. botan. de France. Bull. T. XXVIII. p. 35.)
- Tisklinsky, Ueber Bakterien, die bei sehr hoher Temperatur wachsen. [Russisch.] (Ref. Baumgartens Jahresber. 1898. p. 624.)
- Sur les microbes thermophiles des sources thermales. (Annal. Instit. Pasteur. 1899. p. 788.)
- Sur la flore microbienne thermophile du canal intestinal de l'homme. (Annal. Instit. Pasteur. 1903. No. 3. p. 217.)

*Nachdruck verboten.*

## Einiges über die Bedeutung der direkten mikroskopischen Präparate für das Studium des Käsereifungsprozesses.

[Aus der königl. milchwirtschaftlichen Versuchsstation zu Lodi.

Direktor: Prof. Dr. C. Besana.]

Von Dr. A. Rodella,

Vorstand des bakteriologischen Laboratoriums der Anstalt.

### 7. Mitteilung.

Mit 1 Tafel.

Es ist männiglich bekannt, wie unerläßlich für eine gediegene bakteriologische Technik die Forderung ist, dem Kulturbefund die direkte mikroskopische Untersuchung vorangehen zu lassen. Mag aber auch über die Vortrefflichkeit dieses Prinzips allgemeine Uebereinstimmung herrschen, so wird es doch, wenn es sich um dessen Uebertragung in die Praxis handelt, nicht selten und nicht von wenigen aus dem Auge gelassen.

Es möchte geradezu unglaublich erscheinen, daß auf diese Lücke auch in einer Frage hingewiesen werden muß, die soviel zu er-

örtern gab und noch immer gibt, wie es die der Käsereifung ist, zu deren Studium man schließlich sogar die Röntgenstrahlen zu Hilfe gerufen hat, während einfachere, freilich gut durchgeführte Methoden bessere Resultate geliefert hätten. Immerhin darf hier als Milderungsgrund der Umstand gelten, daß, wenn irgend ein Material der Herstellung von guten mikroskopischen Präparaten Schwierigkeiten bereitet, gerade der Käse als solches genannt werden muß.

Gorini<sup>1)</sup> war der erste und, meines Wissens, auch der einzige, der, unter lebhaftem Bedauern über den vollständigen Mangel an ähnlichen diesbezüglichen Arbeiten, die Bakterienverteilung im Granakäse einem Studium unterzog. Sicherlich ist seine Bemerkung zutreffend, daß aus dem von den betreffenden Autoren beobachteten Stillschweigen, sowie aus dem von ihnen zur quantitativen Analyse der Käse eingeschlagenen Verfahren der Schluß gerechtfertigt wäre, daß die Keime in der Käsemenge gleichmäßig angeordnet seien.

Die von Gorini für seine Untersuchung verfolgte Technik war die gleiche, wie sie in den histologischen Studien zur Anwendung kommt. Er zerschnitt nämlich den Käse mit dem Mikrotom sowohl in frischem Zustande wie nach vorausgegangener Härtung in Alkohol von progressiv stärkerer Konzentration. Diese Härtung wurde von Gorini für sehr zweckmäßig befunden, besonders wenn es sich um neuen Käse handelte.

Der von Gorini benützte Farbstoff war vornehmlich eine schwache, wässerige Lösung von Methylenblau. Der Granakäse von Lodi ergab bei der mikroskopischen Untersuchung der Schnittfläche nach der eben beschriebenen Methode,

1) daß derselbe tatsächlich als eine Kultur von Bakterien betrachtet werden kann, die zum Teil in der Käsemasse gleichförmig verteilt sind, zum Teil aber Anhäufungen von Kolonien verschiedenen Umfangs darstellen und innerhalb der Masse selbst ungleiche Anordnung aufweisen;

2) daß die ungleichmäßige Bakterienverteilung dazu angetan ist, die Ursachen zu vermehren, denen die unrichtigen Ergebnisse der quantitativen bakteriologischen Analyse des Käses zugeschrieben werden müssen.

Abgesehen davon, daß sich Gorinis Arbeit nur auf den Käse von Lodi beschränkt, gibt sie uns auch keinerlei Aufklärung über den Charakter der Bakterien selbst und läßt uns auch darüber im Unklaren, ob die Kokken oder die eigentlichen Bakterien vorherrschen.

Die auch von Gorini betonte besondere Schwierigkeit, beim Käse eine exakte quantitative Analyse zu erzielen, läßt deshalb eine genaue mikroskopische Untersuchung der Bakterienflora dieses Nahrungsmittels um so notwendiger erscheinen, als wir dadurch in die Lage kommen, die Resultate dieser und der bakteriologischen Kulturuntersuchung mit einander zu vergleichen.

Gerade dieses Studium hatte ich mir zur Aufgabe gestellt, wobei ich meine Forschungen vor allem auf zwei Käsearten ausdehnte, nämlich auf den Emmentaler und den Käse von Lodi, und dann in der Folge die Ergebnisse daraus mit den aus der Untersuchung des Gorgonzola gewonnenen in Vergleich zog.

Die von mir angewandte Technik verfolgte ganz den gleichen Weg, wie jene Gorinis, ausgenommen, daß ich neben der schwachen,

1) Diese Zeitschrift.

wässerigen Lösung von Methylenblau mich zur Färbung der Schnitte auch noch anderer Anilinfarben bediente, und zwar vorzugsweise der Karbol-Thioninlösung, die nach meinem Dafürhalten die besten Resultate zu Tage fördert.

Außer der Untersuchung des Käses unter Zerschneiden desselben mit dem Mikrotom, wie es Gorini vorgeschlagen und durchgeführt hat, nahm ich auch zur folgenden Methode meine Zuflucht, die den Vorzug größerer Einfachheit hat und ein leichteres wie eingehenderes Studium des Charakters der im Käse enthaltenen Keime gestattet. Ich schnitt nämlich den zu untersuchenden Käse in kleine Würfel und legte dann jeden Würfel zwischen zwei leicht erwärmte Objektträger, auf die ich einen leichten Druck ausübte. Es blieb dann auf jedem Glas der Abdruck der Käsoberfläche, die mit ihm in Berührung gekommen war. Um gute Präparate zu erzielen, unterzog ich sie vor der Färbung erst einer Entfettung in Chloroform und Alkohol.

Durchmusterte ich nun unter dem Mikroskop eine Reihe von gefärbten Schnittflächen von Käsen verschiedener Herkunft und in verschiedenen Reifungsstadien und stellte ich schließlich die erlangten Resultate mit den durch das eben beschriebene zweite Untersuchungsverfahren gewonnenen zusammen, so gelangte ich zu Ergebnissen, die, falls richtig bewertet, uns einen nicht unwichtigen Stützpunkt zur Lösung der Käsereifungsfrage liefern können.

Als Hauptbefund, der für alle Arten von Käse Geltung hat, seien es nun Hart- oder Weichkäse, können wir folgendes angeben:

1) Die Bakterien sind in der Käsemasse zu Kolonien angehäuft, die verschiedenen Umfang aufweisen und in der Käsemasse selbst ungleich verteilt sind.

2) In seltenen Fällen beherbergen diese Bakterienansammlungen anstatt einer einzigen Art, wie es die Regel ist, im Inneren auch einige anderen Arten zugehörige Formen.

3) Die Zwischenräume von einer Bakterienanhäufung zur anderen sind im allgemeinen nicht ganz frei von Mikroorganismen, sondern es finden sich solche in größerer oder geringerer Menge in den Zwischenräumen zerstreut vor. Sie können jedoch in einigen Fällen dort vollständig fehlen.

Diese Tatsachen, die ich bei allen Käsen bestätigt fand, sind zum Teil bereits von Gorini bei Granakäse beobachtet worden.

Außer diesem Hauptbefund sind uns bei den drei Käsesorten, die wir vorzugsweise unserem Studium unterzogen, nämlich dem Emmentaler-, dem Grana- und Gorgonzolakäse, auch noch folgende Umstände aufgefallen:

Beim Emmentaler drängte sich bei der Untersuchung einer genügenden Anzahl von Präparaten die Ueberzeugung auf, daß wenigstens ein Viertel der Bakterienflora von Mikroorganismen geliefert wird, die mit Bestimmtheit als Kokken angesprochen werden müssen. Sie finden sich meistens in mehr oder minder individuenreichen Kolonien vor, in anderen Fällen auch in Gruppen zu drei oder vier und schließlich auch isoliert. Einige dieser Kokken sind in Diploanordnung. Diese Diplokokken bilden wohl auch Ketten von 10—12 Individuen; sie sind aber sehr selten und fehlen in den meisten Präparaten überhaupt.

Bei der Schwierigkeit, sehr schöne und anschauliche Präparate zu erzielen, ist es nicht leicht, sich über den Charakter der anderen Formen von gleichfalls rundlichem oder kurzförmigem Aussehen auszusprechen,

die bisweilen auch in kleinen Ketten angeordnet sind und dem Bacillus von Günther angehören dürften.

Diese schwierig zu beurteilenden Formen stellen beinahe ein anderes Viertel der Gesamtflora des Emmentalers dar. Der Rest von organisierten Fermenten wird von Bazillen und freien Sporen geliefert. Sporenbildende Bazillen werden verhältnismäßig wenig angetroffen. Unter denselben treten, wenn auch nur selten, solche mit Trommelschlägerformen auf, die, wie wir auf Grund der Kulturuntersuchungen nachweisen konnten, als Putrificusarten anzusehen sind. Ebenfalls selten begegnet man auch plumpen Formen mit je einer Spore an den abgerundeten Enden. Diese sporenhaltigen Bazillen zeigen häufig Degenerationsformen.

Freie Sporen sieht man im Emmentalerkäse in nicht großer Anzahl. Einige dieser Sporen lassen ihre Konturen mit den üblichen Anilinfarben ohne Anwendung einer besonderen Technik deutlich färben.

Hier und da finden sich noch Haufen von schlanken, zierlichen, meist gekrümmten Bacillen und auch Haufen von schön gewundenen Fäden. Gebilde, die mit Milchsäurefermenten, namentlich langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien, wie sie v. Freudenreich und Thöni in ihrer letzten Arbeit abgebildet haben, verglichen werden könnten, sind im Emmentaler nur wenige zu sehen. In Anbetracht der großen Variabilität der Bakterien in ihrem mikroskopischen Aussehen kann diese Beobachtung nur eine sehr geringe Bedeutung haben, und ich bin mir wohl bewußt, daß es eine gefährliche Sache ist, einen Bacillus ohne Kultur bloß mittels morphologischer Kennzeichen bestimmen zu wollen. Nur das eine ergibt sich ohne weiteres aus der direkten mikroskopischen Untersuchung, daß nämlich sehr viele Bakterienarten im Emmentaler vorhanden sind und die Kokken hierbei einen starken Bruchteil aufweisen.

In seiner Arbeit „Milchsäurefermente und Käsereifung“ schreibt v. Freudenreich:

„Auf welche Weise die nicht unbedeutende Menge löslichen Stickstoffes (Stickstoff der löslichen stickstoffhaltigen Stoffe) sich bildet, ist nicht zu ersehen. Entweder ist dieselbe (im Emmentalerkäse) der Wirkung der in der Milch vorhanden gewesenen Kokken zuzuschreiben oder es ist die Galaktose dafür verantwortlich zu machen. Ob letztere überhaupt bei der Reifung eine Rolle spielt, lassen meine Versuche unentschieden, sicher aber ist sie allein nicht im stande, es zu tun.“

Bei dem großen Umfang und der Verschiedenheit der sich im Emmentaler vorfindenden Mikroorganismen erscheint uns v. Freudenreichs Sorge, wo der lösliche Stickstoff herrühren möge, höchst überflüssig. Unter all den mannigfaltigen Elementen der Bakterienflora des Emmentalers wird es wahrlich nicht schwer fallen, jene zu mutmaßen und auch zu finden, die eine Peptonisierung des Kaseins hervorzurufen vermögen, und es wird gar nicht nötig sein, zu den wenigen Arten der Milchsäurefermente unsere Zuflucht zu nehmen, die v. Freudenreich und seine Schule zu Reifungserregern und gleichzeitig auch noch zu Aromabildnern stempeln möchte.

Auch Burri hat die Bedeutung der Kokken bei der Reifung des Emmentalers zugegeben, anerkannte er doch, daß „die langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien als die Hauptursache der Ueberführung des Kaseins in lösliche Produkte anzusehen sind. Eine diesen Prozeß

unterstützende Tätigkeit entfalten wahrscheinlich die in jungen Käsen regelmäßig in großer Zahl zu findenden verflüssigenden Kokken“.

Auch das Studium der direkten mikroskopischen Präparate trägt sicherlich nicht dazu bei, die Ansichten von v. Freudenreich über die Bedeutung der Milchsäurefermente und noch weniger seine Theorien über die Reifung des Emmentalers zu befestigen. Der direkte mikroskopische Befund aller von uns bisher untersuchten Käsearten hat uns gezeigt, daß, wie schon Gorini hervorgehoben hatte, die unregelmäßige Bakterienverteilung die Ursachen, infolge deren bei der quantitativen bakteriologischen Analyse Irrtümer unterlaufen, weiter vermehrt. Diese Analyse hat aber auch noch andere irreführende Mängel, und zwar, was die verschiedenartigen biologischen Eigentümlichkeiten der einzelnen Mikroorganismen betrifft. Ist es doch bekannt, daß auch in den gewöhnlichen Kulturen je nach den gegebenen Bedingungen gewisse Arten gegenüber anderen regere Entwicklung aufweisen, und daß unter den Vertretern ein und derselben Art in ein und derselben Petri-Schale einige große, andere kleinere, wieder andere ganz kleine Kolonien bilden, daß schließlich einige nicht einmal im stande sind, Kolonien zu erzeugen, die sich schon bei schwächerer Vergrößerung nachweisen lassen. Dies hat seinen Grund außer in der verschiedenen tiefen Lage der Kolonien und anderen Wachstumsbedingungen auch in dem abweichenden individuellen Zeugungsvermögen, das bei der gleichen Art und dem gleichen Individuum infolge verschiedener Ursachen Aenderungen unterworfen ist. Wenn also in ein und derselben Petri-Schale nicht nur ungleiche, sondern auch gleiche Keime verschiedene Entwicklungsbedingungen antreffen, was soll man dann erst davon sagen, wenn verschiedenen Arten angehörige Mikroorganismen in Frage kommen?

Andererseits muß das Wachstum eines Mikroorganismus, das schon im gleichen Nährboden veränderlich ist, noch stärkeren Einfluß durch die verschiedene chemische Zusammensetzung des Nährbodens selbst erleiden; so z. B. läßt üppiges Wachstum in Agar nicht ohne weiteres den Schluß auf gleich gutes Gedeihen in Käse oder umgekehrt zu.

Wie bereits erwähnt, hat für Käse vom Charakter des Emmentalers namentlich v. Freudenreich (für den ähnlichen Cheddar cheese Weinzierl, für den Edamerkäse Boeckhout und Otto de Vries) den Standpunkt vertreten, daß hier die „Milchsäurebakterien“ die Reifung im wesentlichen besorgen, und daß Käse aus sehr bakterienarmer Milch durch Zusatz von Milchsäurebildnern sehr viel rascher und besser reifen. — Sporentragende, aërobe und anaërobe Arten seien nicht wesentlich beteiligt, denn dieselben fänden sich in reifem Emmentalerkäse neben reichlichen Milchsäurebildnern nur in sehr bescheidener Menge. — Zusatz der verschiedensten, aus Milch gezüchteten Sporen beeinflusse den Reifungsprozeß kaum oder ungünstig.

Die erste der obigen Thesen beruhigt unseren Skeptizismus ganz und gar nicht, und gerade hinsichtlich der bakterienarmen Milch hegen wir die stärksten Bedenken. Solange es nicht gelingt, Käse aus bakteriologisch steriler Milch herzustellen, wobei die verschiedenen zu erprobenden Fermente hinzugefügt werden, kann man die Versuchskäse nicht auf den Plan treten lassen als Beweismittel in der so verwickelten Frage der Reifung. Ich schmeichle mir zwar nicht, mit Käsen aus sterilisiertem Milchpulver Eiereiweiß u. s. w. zu einem glücklichen Ziele zu gelangen, immerhin ermutigen mich die mit diesem System bis jetzt

gezeitigten Erfolge zu weiteren Versuchen. Und wir haben die Zuversicht, daß bei diesen Experimenten die chemische Analyse bessere Ergebnisse zu verzeichnen haben wird, als bei den nach dem gewöhnlichen Verfahren hergestellten Käsen. Vorläufig können wir nur sagen, daß, wenn auch durch bloßen Zusatz von Milchsäurefermenten allein aus keimarmer Milch guter Käse zu bekommen wäre, dies nur beweisen könnte, daß die Milchsäurefermente nötig seien; der Nachweis, daß sie auch ausreichend sind, stände immer noch aus.

Was das seltene Vorkommen von Sporen und sporenbildenden Formen im Vergleich zu den Milchsäurefermenten im Emmentaler betrifft, so hätten wir hier sicherlich ein Moment von einiger Bedeutung, falls es sich nicht nur aus der Kulturuntersuchung ableiten ließe, sondern auch durch den direkten mikroskopischen Befund bestätigt würde. Nun sind aber, wie bereits gesagt, die mikroskopischen Präparate weit entfernt, diese Hypothese zu bestätigen. Wir haben im Emmentalerkäse nie ein starkes Vorherrschen von Formen wahrgenommen, die mit den Milchsäurefermenten zusammengestellt werden könnten; dagegen schienen mir die, wenn auch nicht in sehr großer Menge vorhandenen Sporen<sup>1)</sup> immerhin die genügende Zahl aufzuweisen, um ihnen in den Reifungsprozessen einen Einfluß zuschreiben zu können. Und man muß sich wohl vor Augen halten, daß, wie wir bereits betont haben, hinsichtlich der Bildung von löslichen Produkten aus dem Kasein eine geringe Anzahl von Sporen einen viel bedeutenderen Faktor darstellt, als alle übrigen Keime, und daß Millionen von Milchsäurefermenten, was die Peptonisierung des Kaseins angeht, etlichen Hunderten von sporenbildenden Mikroorganismen nicht die Wage halten.

Was die dritte Hypothese betrifft, daß der Zusatz der verschiedensten aus Milch gezüchteten Sporen den Reifungsprozeß kaum oder nur ungünstig beeinflusse, so hegen wir gegen dieselbe das gleiche Mißtrauen wie gegen die vorhergehenden, gemäß welcher durch Zusatz von Milchsäurefermenten eine raschere und bessere Reifung bewirkt werden solle.

Die Untersuchungen wurden stets mit nicht steriler Milch durchgeführt und ergaben deshalb Resultate voll Widerspruch. Während Adametz in denselben die Bestätigung seiner Theorie von der Bedeutung der sporenbildenden Keime im allgemeinen und seines *Bacillus nobilis* im besonderen zu finden glaubte, hielt sich andererseits v. Freudenreich für berechtigt, auf Grund derselben Experimente die entgegengesetzte Lehre zu verfechten.

Dem gegenüber steht fest, daß die Untersuchungen, die wir zur Herstellung von Käsen aus sterilisiertem Eiereiweiß und pulverartigen Milchpräparaten unternommen haben und noch fortsetzen, genugsam dartun, daß den sporenbildenden Keimen große Bedeutung bei der Reifung zukommt.

Gegenwärtig nehmen wir größere Mengen von diesen Substanzen und tun sie auch in größere Cylinder als die früher beschriebenen. Sie werden dann mit 2—3 l vollkommen sterilisierter Milch bedeckt, in welche sporenbildende Fermente geimpft werden, und zwar ausschließlich aus Käsen isolierte Aërobien; in andere Cylinder bringen wir streng anaërobe sporenbildende Fermente und in die übrigen Aërobien und Anaërobien zusammen.

1) Wir müssen hier ferner ins Auge fassen, daß die Sporen von vielen anaëroben Bakterien Kokken vertauschen können, von welchen sie sich nur durch den Kulturversuch unterscheiden lassen.



Nun möchte alles darauf hindeuten, daß bei der Käsereifung auch die sporenbildenden Aërobien eine Rolle spielen. Indes muß man für alle Fälle zugeben, daß nicht so sehr diese sporenbildenden Mikroorganismen an und für sich, sondern die von ihnen hervorgerufenen Diastasen es sind, die im Reifungsprozeß die Hauptrolle spielen.

Die Adametzsche Ansicht, daß die Reifung der Hartkäse von außen nach innen erfolge, ist jetzt als unrichtig erkannt. Es wird jedoch eingeräumt, daß dieser Reifungsvorgang von außen nach innen den Weichkäsen eigen ist.

Allgemein bekannt sind die von zahlreichen Autoren und namentlich von Adametz und v. Freudenreich zur Lösung dieser Frage angestellten Experimente, wobei der Käse in Paraffin eingewickelt oder unter Quecksilber gebracht, kurz alles versucht wurde, um die Bildung einer starken Kruste von *Tyrothrix* zu verhindern, die die Käsereifung bewirkt hätte. Die Ergebnisse dieser Experimente sprachen zu Gunsten v. Freudenreichs und auf Grund derselben nimmt man heutzutage an, daß bei den Hartkäsen die Reifung überall gleichmäßig stattfindet.

Diese Anschauung ist richtig, nur scheinen uns darin einige Faktoren, die von unserem Standpunkte aus Bedeutung haben, nicht zur Geltung zu kommen. Die Reifung des Käses erfolgt in der ganzen Käsemasse, aber durchaus nicht gleichmäßig, haben wir doch darin Bakterieninseln und daneben wieder fast bakterienfreie Zonen. Wir möchten die ersteren Reifungszentren nennen, wobei wir das Wort Reifung im weiteren Sinne verstehen. Auf Grund unserer mikroskopischen Untersuchungen drängt uns nämlich alles zur Annahme, daß eines dieser Zentren einen tatsächlichen Herd von aromabildenden Bakterien darstellt, während die Umwandlung des Kaseins in lösliche Produkte als das Werk von Diastasen der in der ganzen Käsemasse zerstreuten Bakterien anzusehen wäre, wie auch von in der genannten Masse bereits vorhandenen Diastasen, infolge von Gärungen gebildet, die schon während der ersten Manipulationen mit dem Käse entstanden waren.

Daß im Emmentaler übrigens sich mehr oder minder pikante Teilchen finden, davon gibt uns unserer eigener Gaumen Rechenschaft, wenn wir uns die Mühe geben, nur ganz kleine Stückchen zu kosten und sie miteinander zu prüfen.

Was jene Unterscheidung betrifft, daß die Reifung bei den Hartkäsen in der ganzen Käsemasse gleichmäßig vor sich gehe, während sie in den Weichkäsen von außen nach innen erfolge, so erscheint mir die Sache zwar richtig, aber doch nicht so einfach, wie es uns z. B. v. Freudenreich in seiner Schrift: „Reift der Hartkäse gleichmäßig durch die ganze Masse oder von außen nach innen?“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900), hinstellen möchte. In Anbetracht des überaus schnellen Wachstums der Bacillengruppe des *Heubacillus* und noch mehr in Anbetracht der Raschheit, mit der sie ihre Diastasen bilden, muß wohl zugegeben werden, daß nicht nur in den Weich-, sondern auch in den Hartkäsen, solange letztere noch nicht ihre definitive Härte erreicht haben, eine Diffusion der verschiedensten Diastasen in der Gesamtmasse des Käses stattfindet. Diese Diffusion erfolgt gerade von außen (wo die Entwicklung der *Tyrothrix*-Bacillen üppiger vor sich geht) nach innen.

Die Vorstellung also, daß der Weichkäse anders als der Hartkäse reife, sollte nicht so streng genommen werden, und nicht etwa eine unübersteigliche Schranke zwischen beiden Käsearten bilden.

In der Tat zeigt auch die direkte mikroskopische Untersuchung der Schnittflächen von Weichkäse, z. B. von Gorgonzola, daß hinsichtlich der Lage die Bakterien ähnlich wie bei den Hartkäsen verteilt sind. Auch hier haben wir starke, in der ganzen Käsemasse zerstreute Anhäufungen von Mikroorganismen und daneben isolierte Individuen oder kleine Gruppen derselben. In diesen Käsen wiegen aber besondere Bakterienformen vor, die sich in den Hartkäsen viel seltener finden. So beherbergt beispielsweise der Gorgonzola verhältnismäßig viele Clostridium- und Plectridium-Formen und isolierte Sporen. Auch die zu Massen vereinigten Bazillen weisen im allgemeinen größere und dickere Formen auf als in den Hartkäsen. Der von uns ebenfalls untersuchte Granakäse von Lodi enthält andererseits ganz kleine, häufig an beiden Enden zugespitzte Bazillen. Die Zahl der Sporen ist in dieser Käseart nicht so groß wie im Gorgonzola.

Unsere vergleichenden Studien über das mikroskopische Aussehen der Mikroorganismen in den verschiedenen Käsearten sind noch lange nicht abgeschlossen, wir hoffen vielmehr in einer weiteren Veröffentlichung einen größeren Beitrag hierüber liefern zu können.

Die Frage der Käsereifung muß, meines Erachtens, studiert werden, unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Ergebnisse:

- 1) aus dem direkten mikroskopischen Befund,
- 2) aus dem aeroben und anaeroben Kulturbefund,
- 3) aus den Experimenten mit absolut steriler Milch oder ähnlichen sterilen Substanzen, unter Hinzufügung der verschiedenen aus Käse isolierten Fermente, seien nun diese vereinzelt oder verschiedenartig miteinander verbunden.

Der direkte mikroskopische Befund muß auch auf die Versuchskäse ausgedehnt werden, damit wir Aufschluß erhalten, ob auch bei ihnen die Reifung in gleicher Weise, wie bei den nach dem gewöhnlichen Verfahren hergestellten Käsen zu Wege kommt. Diesen Punkt hätten wir beispielsweise in den Untersuchungen von v. Freudenreich gern berücksichtigt gesehen, und zwar dort, wo er Käse mit bakterienarmer Milch, wie er sagt, unter Beifügung von Milchsäurefermenten, hergestellt hat. Doch, wie erwähnt, werden wir ja noch Gelegenheit haben, auf diesen Umstand zurückzukommen.

Was den Kulturbefund betrifft, so läßt sich derselbe, wie des öfteren betont, nicht nach einer einzigen Methode mit Sicherheit durchführen, um so weniger, wenn sie so unvollkommen ist, wie das gewöhnliche Plattenverfahren nach Koch.

Jedenfalls müssen diese bakteriologischen Untersuchungen von der grundsätzlichen Erwägung geleitet werden, daß die Käsereifung ein Prozeß ist, der Monate, zuweilen Jahre beansprucht, und daß demnach jene Kulturuntersuchungsmethoden auszuschalten sind, bei denen infolge Austrocknung des Materials oder anderer Ursachen wegen nur raschlebige Keime zur Entwicklung kommen können.

#### **Tafelerklärung.**

Fig. 1, 2 und 3. Reifer Emmentaler, Karbol-Thioninfärbung. Koristka Oc. 2. Imm. Om.  $\frac{1}{12}$ .

Fig. 4. Reifer Gorgonzolakäse, Karbol-Thioninfärbung. Koristka Oc. 2. Imm. Om.  $\frac{1}{12}$ .

Fig. 5. Reifer Granakäse, Karbol-Thioninfärbung. Koristka Oc. 2. Imm. Om.  $\frac{1}{12}$ .

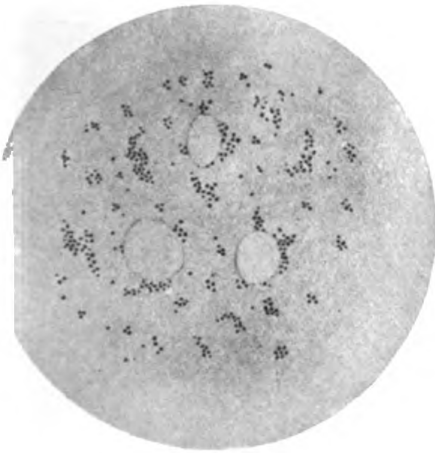


Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 5.



## N a c h t r a g.

In der „Revue générale du lait“, No. 7. 1905, war Freudenreich so gütig, meine in der vorliegenden Zeitschrift, Bd. XIII. 1904. p. 504, unter dem Titel „Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Anaëroben und ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozesse“ erschienene Arbeit eines Referates zu würdigen. Wenn ich ihm einerseits großen Dank zolle, daß er sich mit meiner bescheidenen Veröffentlichung, der sowohl er, wie der geneigte Leser nur die Bedeutung einer vorläufigen Mitteilung beilegen konnte, befaßt hat, ergreife ich andererseits mit Vergnügen die Gelegenheit, um die in der erwähnten Rezension niedergelegten Anschauungen Freudenreichs auf ihren richtigen Wert zurückzuführen.

Ich muß zuvörderst vorausschicken, daß ich von meiner ersten Mitteilung an nicht nur die Anaëroben des Käses behandelte, die ich unter die Bacillen der Buttersäure (im Sinne Schattenfrohs und Grassbergers) klassifizierte, sondern auch jenen Anaëroben einen ziemlich großen Platz einräumte, die ich damals nicht anders als mit dem Allgemeinbegriff „andere Anaërobenarten“ bezeichnen konnte.

Es mußte daher Freudenreich zufällig das Gedächtnis im Stich gelassen haben, als er in seiner Rezension behauptete, daß „Rodella sich bemüht habe, das Vorhandensein von anaëroben Mikroben der Buttersäurefermente im Käse — eine bereits von zahlreichen Autoren bewiesene Tatsache — nachzuweisen“, und dies um so mehr, wenn man sich vorhält, daß ebenderselbe Autor mittels Brief vom 20. Juni 1904 mich um Kulturen der von mir im Käse gefundenen Anaëroben ersucht hatte und in den 10 von mir ihm überwiesenen Kulturen ganz wohl hätte beobachten können, daß einige darunter waren, die nichts mit den Buttersäurefermenten zu tun hatten, insbesondere, wenn für diese Gruppe von Mikroorganismen jene engeren Grenzen gezogen werden, die bis zur Stunde von der Mehrheit der Autoren als zutreffend anerkannt werden.

In einer der nächsten Nummern dieser Zeitschrift werde ich die Beschreibung von vier neuen Anaërobenarten liefern, die nicht den Buttersäurefermenten angehören und deren biologisch-chemische Charaktereigenschaften eben von den zwei Assistenten dieser Versuchsanstalt einem Studium unterzogen werden. Ich hoffe, meiner Arbeit zwecks besserer Veranschaulichung der Schilderung dieser neuen Arten auch zahlreiche Photogramme beifügen zu können.

Uebrigens besitze ich noch viele andere Kulturen von Milch- und Käseanaëroben, deren Untersuchung ich mir für spätere Veröffentlichungen vorbehalte.

Uns dünkt, dies alles sei nicht etwas Altes, sondern wohl der Beachtung wert, auch wenn „andere Forscher auf Grund der relativ wenig bedeutenden Anzahl von Anaëroben im Käse es in Zweifel ziehen, daß sie in diesem Prozeß keine Rolle spielen“.

Und welches Verfahren glaubt denn Freudenreich behufs Beurteilung der Zahl der in einem bestimmten Käse befindlichen Anaëroben eigentlich zu raten?

Die Burrische Methode — das haben wir oft genug wiederholt — entspricht nicht dem Zwecke.

Alle übrigen bisher vorgeschlagenen Methoden geben uns, wie ich in meiner von Freudenreich so summarisch besprochenen Arbeit

dargetan habe, ebenfalls kein getreues Bild vom Anaërobiequantum in einem gegebenen Material. Und daß dies nicht etwa eine bloße persönliche Anschauung von mir ist, sondern nachgerade als ein in der Bakteriologie anerkanntes Gesetz betrachtet zu werden beginnt, beweist auch die folgende Stelle aus einer der jüngsten Arbeiten von Passini<sup>1)</sup>:

„Zu diesem Zwecke untersuchte ich Faeces von Erwachsenen und Säuglingen auf ihren Gehalt von Putrificus-Sporen, wobei von der Voraussetzung ausgegangen wurde, daß dieser Mikroorganismus im Darne ebenso leicht sporuliere als in den künstlichen Nährböden und die Zahl der aus den Dauerformen auskeimenden Kolonien auf die Intensität seiner Vegetation schließen ließe.

Es wurden anaërobe Plattenkulturen auf Gelatine und Agar von verschiedenem Alkaleszenzgrade aus pasteurisierten (durch 15 Minuten bei 70° C erwärmten) Stuhlausschwemmungen angelegt. Die Mißerfolge lehrten jedoch, daß man mit diesem bei Aërobie zur Zählung der Keime im Ausgangsmaterial im allgemeinen verlässlichen Verfahren hier nicht zum Ziele gelangen könne. Ein oder das andere Mal wuchsen Kolonien des *Bacillus putrificus*, meist kamen nur fakultativ anaërobisch wachsende Bakterienarten zur Entwicklung, während gleichzeitige Aussaaten auf im gespannten Dampfe sterilisiertem Eiereiweiß die Anwesenheit des Fäulniserregers erwiesen.“

Wir können dem noch eine andere Beobachtung aus unserer Erfahrung mit den Anaërobie anfügen.

Bei der Technik der Untersuchungen dieser Mikroorganismen gebrauchen wir zur Ueberimpfung überaus häufig, ja fast ausschließlich, sterilisierte Pasteursche Pipetten.

Es hat sich einigemal ereignet, daß bei der Einführung der gleichen Menge von Material aus einer frischen Bouillon-, Milch-, etc.-Kultur eines unserer Anaërobie in Agar oder Gelatine in hoher Schicht in einigen Fällen Wachstum wahrgenommen werden konnte, in anderen wieder nicht. Und doch hatten wir bei den Versuchen die gleichen Bedingungen obwalten lassen, wobei wir die Möglichkeit eines Einflusses der Temperatur oder anderer ähnlicher Ursachen, die eine Wirkung ausüben konnten, auf den Erfolg ausgeschlossen hatten.

Außerdem können wir fürs allgemeine die Behauptung aufstellen, daß die Ueberimpfung von Anaërobie der Milch und des Käses auf die gewöhnlichen Nährböden sich leicht erzielen läßt, wofern man nur acht hat, sie reichlich vorzunehmen, widrigenfalls Gefahr vorhanden ist, daß die Kulturen steril bleiben. Und das ist der Grund, weshalb wir die Ueberimpfungen mittels der Pipette von Pasteur vorziehen.

Nach diesen Vorbemerkungen gebe ich der wider mich erhobenen Kritik Freudenreichs ungekürzt Platz:

„Bei seinen Untersuchungen über die Anaërobie der Milch gelangt Rodella zum Resultat, daß sich dieselben regelmäßig in 0,1 ccm Milch vorfinden. Daraus schließt er, daß 1 g Käse mindestens 100 davon enthalte, und es sei deshalb, sagt er, die Behauptung vom seltenen Vorkommen derselben im Käse nicht begründet.

Darauf erwidern wir vor allem, daß sich Rodella auf eine höchst theoretische Berechnung stützt, deren Ergebnis mit seinen früheren Untersuchungen über den Emmentalerkäse nicht in Einklang zu stehen

1) Zeitschrift für Hygiene. Bd. XLIX. 1905.

scheint. Rodella hatte tatsächlich in der Regel 0,2—0,5 g des Käses nehmen müssen, um deren Vorhandensein festzustellen.

Außerdem müssen wir bemerken, daß 100 Anaërobien auf 1 g Käse eine sehr bescheidene Ziffer darstellen, wenn man bedenkt, daß das gleiche Quantum Käse oft Hunderte von Millionen der Milchsäurefermente beherbergt.“

Hiergegen müssen wir Freudenreich vorhalten, daß seine Berechnung von Hunderten von Millionen von Milchsäurefermenten in 0,5 g Käse noch ärger theoretisch ist und überdies gerade den entgegengesetzten Wert hat, den er ihr beilegen möchte. Davon sich zu überzeugen, genügt ein einziger Blick auf die der Arbeit von Freudenreich und Thöni „Ueber die Wirkung der verschiedenen Milchsäurefermente auf die Käsereifung“ (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1904) angehängte Tabelle.

Wir sehen beispielsweise auf der ersten Tabelle bei No. 4b 11250000 Kolonien von *B. lactis acidi* in 1 g auftreten, ohne daß der Käse eine Spur von Reifung aufgewiesen hätte!!

Ich kann mich in diesem Nachwort nicht in die Kritik vertiefen. Aber die zuerst von Gorini und dann durch meine vorliegende Arbeit nachgewiesene Tatsache von der besonderen Anordnung der Bakterien im Käse genügt ja vollauf, um der von Freudenreich gehandhabten Berechnung der Kolonien allen und jeglichen Wert zu benehmen. Es ist selbstverständlich, daß, wenn wir bei der Untersuchung z. B. auf Stellen stoßen, die ich als Reifungszentren bezeichnen möchte, auch von anaëroben Bacillen Hunderte von Millionen auf den Plan treten können.

Andererseits aber werden jene isolierten, zwischen den Reifungszentren zerstreuten Bacillen, die, eben weil sie vereinzelt sind und sich nicht vermehrt haben, im Reifungsprozesse des Käses eine untergeordnete Rolle spielen, fast bei jeder Untersuchung in unseren künstlichen Nährböden auftreten, wofern sie nur jener Klasse von Bakterien angehören, die, wie das *Bacterium acidi lactici*, für ihr Wachstum keine großen Aufforderungen stellen. Wenn aber jene vereinzelter Bacillen streng anaërobisch wachsende Mikroorganismen sind, und wenn sie insbesondere, wie jene, die wir nächstens beschreiben werden, anderen Gruppen als die Buttersäurefermente angehören, so läßt sich ruhig behaupten, daß sie sich in 99 von 100 Fällen nicht entwickeln werden.

Da ich die Bedeutung der Milchsäurefermente als Reifungselemente des Käses in keiner Weise als erwiesen betrachte, so bin ich vollständig mit Freudenreich einverstanden, wenn er sagt, daß es mir noch nicht gelungen sei, die Bedeutung der Anaërobien im Reifungsprozesse mit mathematischer Sicherheit nachzuweisen. Mir genügt es vollauf, deren Vorhandensein in einer so bedeutenden Menge dargetan zu haben, wie sie die Untersuchungen der früheren Autoren nicht hatten erwarten lassen.

Bei dem gegenwärtigen Stande meiner Forschungen bin ich aber jedenfalls gar weit davon entfernt, das Schlußwort Freudenreichs zu unterschreiben, das da lautet:

„Es hat den Anschein, als ob man zur Wiederauffindung der anfangs in der Milch vorhanden gewesenen Anaërobien im Käse seine liebe Not habe.“

## Stickstoffverluste in faulenden Peptonlösungen, ein Beitrag zur Methodik der bakteriellen Bodenuntersuchung.

[Aus dem agrikulturchemischen und bakteriologischen Institut der Universität Breslau.]

Von Dr. Paul Ehrenberg, Breslau.

In einer früheren Arbeit hatte ich Gelegenheit, bei der Untersuchung eines Bodens auf Fäulniskraft nach Remy scheinbar größere Stickstoffverluste festzustellen<sup>1)</sup>. Erst in jüngster Zeit bot sich mir die Möglichkeit, die hier vorliegenden Verhältnisse eingehender zu prüfen, und dabei auch einige für die Untersuchung derartiger Peptonlösungen wichtige Bedingungen klarzulegen, worüber in folgendem Bericht erstattet sei.

Bei den erwähnten früheren Untersuchungen war die zu je 100 ccm portionierte sterile Peptonlösung mit je 10 g des zu untersuchenden Bodens geimpft worden. Am 4. und 8. Tage war durch Filtration so viel erdfreie Fäulnislösung gewonnen worden, um 25 ccm mit Magnesia usta auf Ammoniak, und am 8. Tage außerdem noch auf Gesamtstickstoff zu untersuchen. Die so erhaltenen Zahlen wurden mit dem in gleicher Weise festgestellten Gehalt einer ungeimpften, 1-proz. Peptonlösung, sowie untereinander verglichen. Der Einwirkung von durch Verdunstung bedingten Veränderungen der Konzentration auf die Ergebnisse glaubte ich dadurch wirksam zu begegnen, daß die sämtlichen, auch die blinden Lösungen, unter gleicher Temperatur gehalten wurden; die für 25 ccm Fäulnislösung erhaltenen Werte wurden daher einfach durch Multiplikation mit 4 auf 100 bzw. entsprechend auf das Liter umgerechnet<sup>2)</sup>. Es hatten sich so unter anderem die folgenden Werte ergeben:

Zur Impfung benutzter Boden	Gesamtstickstoff in 100 ccm der Lösung nach 8 Tagen bei Entnahme der zur Impfung benutzten Bodenprobe			
	vor der Bestellung: mg	nach der I. Ernte: mg	nach der II. Ernte: mg	nach der III. Ernte: mg
Keine Impfung, blinde Lösung	147,4	143,3	130,0	143,8
Roggenboden	136,9	131,5	122,8	129,8
Kartoffelboden	134,8	130,8	120,4	127,1
Lupinenboden	137,0	120,9	123,6	129,1
Storckowboden II	137,2	128,2	123,2	128,6
Büttgenbachboden	119,6	100,2	95,6	108,8

Wie ersichtlich, kamen überall nicht ganz unerhebliche Stickstoffverluste zur Feststellung, besonders erreichten diese aber beim Büttgenbachboden eine Höhe, welche um so mehr Aufmerksamkeit erregen mußte, als der in Frage kommende Boden auch sonst besondere Eigenschaften aufwies. Nebenbei sei bemerkt, daß er von allen untersuchten

1) Die bakterielle Bodenuntersuchung in ihrer Bedeutung für die Feststellung der Bodenfruchtbarkeit. (Landw. Jahrbücher. Bd. XXXIII. p. 58 ff.)

2) Bezüglich des Näheren muß ich auf die erwähnte Arbeit verweisen, auch finden sich die Einzelergebnisse derselben zum Teil auch in Bd. XIV. p. 302 dieser Zeitschrift.



Böden der einzige war, der als „schwer“ im landwirtschaftlichen Sinne, und außerdem noch als humusreich bezeichnet werden konnte. Alle anderen waren Sandböden.

Als ich am hiesigen agrikulturchemischen und bakteriologischen Institut in eine Neuprüfung der hier obwaltenden Erscheinungen eintrat, lenkte Herr Prof. Pfeiffer, dessen teilnehmenden Interesses ich mich bei der ganzen Untersuchung erfreuen durfte, meine Aufmerksamkeit darauf, daß die durch Filtrieren von der Fäulnislösung getrennte Impferde Stickstoff durch Absorption oder biologische Festlegung in größerem Maßstabe zurückhalten könnte. Es wurde daher nach Beschaffung des betreffenden Bodens, wofür ich Herrn Ehatt, Administrator der königlichen Eifeldomänen in Büttgenbach, noch zu besonderem Dank verpflichtet bin, folgender Versuch durchgeführt:

Kjeldahl-Verbrennungskolben von 750 ccm Inhalt wurden mit je 100 ccm 1-proz. Peptonlösung (Peptonum siccum Witte in destilliertem Wasser auf dem Wasserbad gelöst, filtriert, aufgefüllt) gefüllt und nach Sterilisierung mit je 10 g Boden geimpft. Zur Verwendung kam ein Boden des hiesigen Versuchsfeldes Rosenthal<sup>1)</sup>, schwerer Lehm, und zwei Sorten des näher zu erforschenden Büttgenbachbodens, über den eingehende Mitteilungen in der bezeichneten Abhandlung zu vergleichen sind; die eine, als Büttgenbach-Heideboden bezeichnet, repräsentiert den noch nicht in Kultur genommenen, der wilden Heidevegetation überlassenen, die andere, Büttgenbachboden, den bereits 4 Jahre im landwirtschaftlichen Betriebe befindlichen Boden. Die Erde, welche seinerzeit in Berlin so eigenartige Ergebnisse gezeitigt hatte, stammte von dem gleichen Felde wie die zweitgenannte Sorte, nur daß mittlerweile der Acker 3 Jahre länger unter dem Pfluge sich befand. Nach der Sterilisation wurden nun alle Gefäße mit Boden geimpft, acht erhielten je 10 g der gleichen Bodenart, und von den acht die Hälfte der Fäulnis überlassen, die Hälfte aber ungefault auf Gesamtstickstoff untersucht, wobei der Gesamtinhalt der Kolben nach der Gunning-Atterbergschen Modifikation der Kjeldahl-Methode verbrannt wurde<sup>2)</sup>.

Es fand sich Gesamtstickstoff in je 100 ccm Peptonlösung + 10 g Boden:

Bei Impfung mit	Lösung ungefault	Lösung 8 Tage bei 30° gefault
	mg	mg
Rosenthalboden	168,24	170,58
	167,64	169,31
	168,00	168,36
	168,48	167,50
	<hr/> 168,09	<hr/> 168,94
	$r = \pm 0,2417^3)$	$r = \pm 0,8911$
	$R = \pm 0,1208$	$R = \pm 0,4456$

1) Ueber den Boden des Versuchsfeldes Rosenthal vergl. v. Rümker, Mitteilungen der landw. Institute der Universität Breslau. Bd. I. Heft 3. p. 1 und Bd. II. p. 823.

2) Hierbei kommt die Benutzung der Kjeldahl-Kolben für die Portionierung sehr zu statten, denn die Verbrennung geht ohne Störung vor sich. Verwendet man dagegen andere, z. B. Erlenmeyer-Kolben, und spült nach Beendigung der Fäulnis in Verbrennungskolben über, so ergeben sich durch die größeren Flüssigkeitsmengen Schwierigkeiten, und es sind durch Stoßen bei dem Kochen Verluste zu erwarten.

3) Es ist  $r$  der wahrscheinliche Fehler der Einzelbestimmung,  $R$  der wahrscheinliche Fehler des Mittels. Vergl. auch Pfeiffer, Mitteilungen der landw. Institute der kgl. Universität Breslau. Bd. II. p. 647. Bezüglich der Titerstellung ebenda. p. 293.

Bei Impfung mit	Lösung ungefault	Lösung 8 Tage bei 30 ° gefault
	mg	mg
Büttgenbachboden	166,64	167,83
	168,67	165,92
	168,31	166,76
	168,73	verloren
	<u>168,09</u>	<u>166,84</u>
	$r = \pm 0,6628$	$r = \pm 0,6457$
	$R = \pm 0,3314$	$R = \pm 0,3728$
Büttgenbach-Heideboden	166,09	168,00
	166,21	166,35
	167,64	167,17
	165,97	166,97
	<u>166,48</u>	<u>167,12</u>
	$r = \pm 0,5269$	$r = \pm 0,4595$
	$R = \pm 0,2635$	$R = \pm 0,2298$

War sonach bei den beiden von Büttgenbach stammenden Böden ebensowenig wie bei dem zu Vergleichszwecken herangezogenen Rosenthalboden irgend ein die Fehlergrenzen namhaft übersteigender Stickstoffverlust infolge der Fäulnis nachzuweisen, so konnten doch hierfür zwei Ursachen maßgebend sein. Zwar erhielt die oben erwähnte Anschauung, daß es sich bei den früher beobachteten Verlusten um eine Zurückhaltung von Stickstoff durch den abfiltrierten Boden handele, eine wesentliche Stütze. Doch war es ja auch möglich, wenn auch nicht wahrscheinlich, daß der früher benutzte Büttgenbachboden in seinen bakteriellen Eigenschaften anders geartet gewesen war. Handelte es sich aber um eine Absorption von Stickstoff oder um eine biologische Festlegung, so mußte der scheinbare Verlust auch wieder, und zwar wie bei jeder Art von Ammoniakfäulnis, so bei allen stärker absorptionsfähigen Böden, nicht nur bei dem Büttgenbacher, in die Erscheinung treten, wenn durch Filtration die Erde von der Fäulnislösung getrennt wurde. Dies sollte der folgende Versuch erweisen: Es wurden wieder in Kjeldahl-Kolben 100 ccm 1-proz. Peptonlösung sterilisiert, jedoch schon nach einmaligem Sterilisieren im Dampftopf je 10 g eines der drei Böden hinzugefügt, und nun noch viermal fraktioniert sterilisiert. Die so erhaltenen Erdpeptonlösungen erwiesen sich als steril. Darauf fand bei einem Drittel der Lösungen die Bestimmung des Gesamtstickstoffs statt. während zwei Drittel mit je zwei kleinen Platinösen einer aus Peptonlösung durch Impfen mit allen drei benutzten Böden und mehrfache Abimpfung hergestellten Fäulnislösung infiziert wurden. Es sollte so jede spezifische Eigentümlichkeit der Bakterienflora eines der Böden ausgeschaltet werden. Dann wurden von den 12 Tage bei 19° gefaulten Lösungen die Gesamtstickstoffgehalte festgestellt, und zwar zur Hälfte in der gesamten Lösung, zur Hälfte in einem abfiltrierten, erdfreien Teil der Lösung, 25 ccm. Diese Menge wurde unter Berücksichtigung des durch die Verdunstung verursachten Flüssigkeitsverlustes, über den nachher noch zu sprechen sein wird, auf 100 ccm umgerechnet. Es fand sich Gesamtstickstoff in je 100 ccm 1-proz. Peptonlösung + 10 g Boden:

(Siehe Tabelle p. 157.)

Diese Zahlen geben eine glänzende und wohl einwandfreie Bestätigung der Anschauung, daß es sich bei den scheinbaren Stickstoffverlusten gelegentlich der Fäulnis von Peptonlösungen in Wirklichkeit um eine Festlegung von Stickstoff in dem durch Abfiltrieren beseitigten Impfungsboden handelt. Denn alle drei benutzten Böden zeigen, sobald

Benutzter Boden	Lösung ungefault ganz verbrannt	Lösung 12 Tage bei 19° gefault ganz verbrannt	filtriert, 25 ccm ver- brannt und umge- rechnet
	mg	mg	mg
Blinde Peptonlösung, ohne Impfung m. Boden	143,90 146,76 143,86 144,30 <hr/> 144,71 $r = \pm 0,9337$ $R = \pm 0,4669$		
Rosenthalboden	168,30 172,12 169,16 167,46 <hr/> 169,26 $r = \pm 1,3686$ $R = \pm 0,6843$	168,38 166,73 verloren 171,20 <hr/> 168,77 $r = \pm 1,5246$ $R = \pm 0,8802$	105,22 99,90 105,07 103,63 <hr/> 103,46 $r = \pm 1,6701$ $R = \pm 0,8350$
Büttgenbachboden	166,15 167,32 165,65 166,01 <hr/> 166,28 $r = \pm 0,4877$ $R = \pm 0,2439$	167,41 167,32 166,85 168,25 <hr/> 167,46 $r = \pm 0,3930$ $R = \pm 0,1965$	111,00 110,58 112,52 109,52 <hr/> 110,91 $r = \pm 0,8390$ $R = \pm 0,4195$
Büttgenbach-Heideboden	168,66 167,67 170,31 170,69 <hr/> 169,33 $r = \pm 0,9550$ $R = \pm 0,4775$	168,58 167,31 167,90 167,20 <hr/> 167,75 $r = \pm 0,4279$ $R = \pm 0,2140$	107,89 106,74 106,55 verloren <hr/> 107,06 $r = \pm 0,4890$ $R = \pm 0,2823$

die zur Untersuchung kommende Lösung vorher filtriert wird, etwa ein Viertel zu wenig Stickstoff, bei direkter Verbrennung dagegen wieder keinen, die Fehlergrenzen nennenswert übersteigenden Verlust.

Da der Stickstoff des zur Impfung benutzten Bodens, selbst im Fall er trotz der Fäulnis ganz unlöslich geblieben wäre, nur etwa 25 mg beträgt, so ist also in jedem einzelnen Fall eine Menge von rund 35—40 mg aus der Peptonlösung stammenden Stickstoffs durch den Boden in absorptiver und biologischer Weise festgelegt worden. Wahrscheinlich handelt es sich um beide Vorgänge, doch wird die Bindung durch Zeolithe und Humussubstanzen vorgeherrscht haben. Dies geht einmal aus dem Umstand hervor, daß bei dem oben angeführten Berliner Versuch die mit reicher Bakterienflora versehenen Sandböden nicht annähernd so starke scheinbare Verluste aufwiesen, als der humusreiche, schwere, aber nur bakterienarme Büttgenbachboden. Weiter spricht dagegen die große Menge Ammoniak, die in den gefaulten Lösungen (vergl. die folgenden Seiten) festgestellt werden konnte. Bei überwiegender biologischer Festlegung wären, da man ja einen Teil des bei der Filtration nicht gefundenen Gesamtstickstoffs auf den Eigengehalt des Impfbodens, einen Teil des gefundenen auf übrig gebliebenes Pepton rechnen muß, diese Mengen unwahrscheinlich.

Wirkt es auch etwas überraschend, daß trotz der starken Ammoniakproduktion in Fäulnislösungen ein nennenswerter Verlust an Stickstoff durch Ammoniakverdunstung bei den vorliegenden Versuchen sich nicht

bemerkbar gemacht hat, so gewinnen doch die angeführten Ergebnisse besonders für die Methodik der bakteriellen Bodenuntersuchung eine nicht unerhebliche Bedeutung, nämlich bezüglich der Untersuchung auf Fäulniskraft von Ackerböden.

Die Remysche Methode der Untersuchung der Fäulniskraft eines Bodens durch Impfung und nachfolgende Untersuchung einer Peptonlösung hat sich bereits ziemlich in bodenbakteriologischen Laboratorien eingebürgert. Wenigstens ist außer der grundlegenden Veröffentlichung<sup>1)</sup> dieselbe noch in vier anderen Arbeiten benutzt worden, teilweise mit geringen Abänderungen<sup>2)</sup>. Bei allen diesen Arbeiten ist aber, soweit man urteilen kann, die Peptonlösung zum Zweck der Untersuchung filtriert worden, so daß die eben nachgewiesene Festlegung von Stickstoff in dem abfiltrierten Impfungsboden eine nicht unerhebliche Rolle gespielt und die Untersuchungsergebnisse in weitgehendem Maße getrübt haben kann. Denn es liegt auf der Hand, daß auch für die Untersuchung auf durch Fäulnis gebildetes Ammoniak eine derartige Festlegung von Stickstoff großen Einfluß haben kann.

Bemerkt sei hierzu noch, daß Löhnis in seiner erstangeführten Arbeit größtenteils von einer Filtration abgesehen zu haben scheint. Dagegen verwendet er von der Impferde abfiltrierte Lösungen zur Ammoniakbestimmung in zwei späteren Arbeiten (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. Ueber die Zersetzung des Kalkstickstoffs, p. 93, und Untersuchungen über den Verlauf der Stickstoffumsetzungen in der Ackererde. Habilitationsschrift. Leipzig 1905. p. 11). Auch spricht er an anderer Stelle<sup>3)</sup> von Verlusten an Stickstoff in Fäulnislösungen, welche bis zur Höhe von 40 Proz. hinaufgehen. Es ist vielleicht nicht ganz unwahrscheinlich, daß es sich hierbei um Untersuchungen filtrierter Lösungen gehandelt haben dürfte, bei denen abfiltrierte Erde in der oben geschilderten Art und Weise Stickstoff zurückgehalten hat.

Um die Bedeutung der Stickstofffestlegung bei Untersuchung filtrierter Fäulnislösungen nun näher zu kennzeichnen, wurde noch mit den bereits vorher verwendeten Böden eine Untersuchungsreihe angesetzt, bei der unter den gleichen Bedingungen, wie bei dem vorgeschilderten Versuch die bisherige, mit Filtration der Lösungen arbeitende Methode mit der wohl für die Zukunft anzuwendenden Verarbeitung ganzer Lösungen verglichen wurde.

Hierbei war aber noch ein Moment zu beachten, das bisher noch nicht in den Kreis der Betrachtungen gezogen worden ist, wenigstens nicht in ausreichender Weise, nämlich die Wirkung der Verdunstung. Bei meinen früheren Untersuchungen hatte ich, wie erwähnt, dadurch, daß blinde wie geimpfte Bestimmungen unter der gleichen Temperatur gehalten, und zu gleichen Zeiten untersucht wurden, zwar der Vergleichbarkeit der betreffenden Lösungen Rechnung getragen, doch nicht verhindern können, daß durch die allmählich konzentrierter werdenden

1) Remy, Bodenbakteriologische Studien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 657.)

2) Wohltmann, Fischer und Schneider, Bodenbakteriologische und bodenchemische Studien aus dem Versuchsfelde. (Journal f. Landwirtsch. Bd. III. p. 97.) — Löhnis, Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. p. 262.) Derselbe, Zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. II. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 1.) — Ehrenberg, Die bakterielle Bodenuntersuchung in ihrer Bedeutung für die Feststellung der Bodenfruchtbarkeit. (Landwirtsch. Jahrb. Bd. XXXIII. p. 1.)

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. p. 457.

Lösungen in 25 ccm abfiltrierter Fäulnisflüssigkeit tatsächlich mehr als der vierte Teil der ursprünglichen Lösung vorhanden war. Der hierin liegende Fehler dürfte sich u. a. besonders auch bei den Löhnisschen, mit sehr geringen Stickstoffmengen arbeitenden Untersuchungen geltend machen, zumal hier die Lösungen 3 bezw. 6 Wochen bei 20° und teilweise höher aufbewahrt wurden. Vgl. L ö h n i s, Habilitationsschrift. p. 11 u. folg.

Benutzt man, wie ich, auf die hier veröffentlichten Untersuchungen gestützt, nachher empfehlen werde, nur ganze Lösungen ohne Filtration zur Untersuchung, so fällt, und das ist ein weiterer Vorteil der Modifikation, jede Rücksichtnahme auf Wasserverdunstung fort. Da ich jedoch in den folgenden Zahlenreihen einen Vergleich zwischen der Untersuchung mit und ohne Filtration zu bringen beabsichtige, so muß ich bei der ersteren den Fehler durch Verdunstung rechnerisch beseitigen, soll der durch Festlegung von Stickstoff bedingte klar zu Tage treten. Es ist dies um so mehr nötig, als sonst beide sich mehr oder weniger kompensieren können.

Zu diesem Zweck wurden zunächst die Verdunstungsverluste von 10 Fäulnislösungen in 12 Tagen bei 19° festgestellt.

Gewichtsänderungen von Fäulnislösungen durch Verdunstung.  
100 ccm 1-proz. Peptonlösung wiegen bei 20° im Durchschnitt 99,92 g. Demnach wiegt die Füllung eines jeden Kolbens im Durchschnitt 109,92 g (Erde plus Peptonlösung).  
Gewicht nach 12 Tagen:

No. des Kolbens	Bruttogewicht	Taragewicht	Nettogewicht	
	g	g	g	
49	196,40	91,67	104,73	
51	184,60	78,45	106,15	
52	188,35	82,45	105,90	
53	197,15	91,60	105,55	$r = \pm 0,6003$
54	192,08	88,40	103,68	
55	194,00	88,43	105,57	$R = \pm 0,1898$
56	184,10	80,20	103,90	
58	177,90	73,50	104,40	
59	191,10	86,90	104,20	
60	176,85	72,65	104,20	
			<hr/> 104,83	

Da die Füllung 109,92 betrug, das nach 12 Tagen ermittelte Durchschnittsnettogewicht 104,83, so ist in 12 Tagen der Verlust 5,09 gewesen.

Wird also ein Durchschnittsverlust von 5 ccm in 12 Tagen angenommen, so entsprechen 25 ccm, die nach 6 Tagen abfiltriert werden, nicht mehr dem 4. Teil der am 6. Tage vorhandenen Flüssigkeitsmenge, sondern dem 3,9. Ebenso, falls nur am 12. Tage 25 ccm abfiltriert werden, entsprechen diese dem 3,8. Teil der Gesamtlösung. Wird jedoch aus demselben Gefäß, das bereits am 6. Tage 25 ccm hergab, noch am 12. Tage Flüssigkeit entnommen, so ändern sich die Verhältnisse für die am 12. Tage entnommenen Mengen. Es ist nämlich dann der Verlust vom 1—6. Tage wie vorher, 2,5 Proz. der Anfangslösung. Am 6. Tag werden nun zum Zweck der Filtration ca. 35 ccm entnommen, wovon 25 ccm untersucht werden. Vom 6. Tage an bezieht sich also der Verlust von weiteren 2,5 ccm nicht mehr auf die Anfangslösung, sondern auf 100 minus (2,5 plus 35), ccm, also auf 62,5 ccm, wovon er 4 Proz. ausmacht. Danach stellt sich der Gesamtverlust nach 12 Tagen unter Berücksichtigung der Entnahme am 6. Tage, auf 6,5 Proz. der Anfangslösung, und dementsprechend sind die bei

Untersuchung von 25 bzw. 10 ccm am 12. Tage erhaltenen Werte auf 93,5, nicht auf 100 umzurechnen bzw. die Faktoren 3,7 und 9,35 zum Umrechnen zu benutzen. Derart ist auch bei den folgenden Untersuchungen verfahren worden.

Diese, bei welchen übrigens ganz gleiche Verhältnisse zu Grunde gelegt wurden, wie bei den vorhergehenden Bestimmungen, sind aus der beigegebenen Tabelle zu ersehen. Bemerkt sei noch, daß zu allen Destillationen auf Ammoniak 5 g Magnesia usta benutzt wurde, wie daß die Verbrennungen auf Gesamtstickstoff nach der Gunning-Atterbergschen Modifikation der Kjeldahl-Methode erfolgten (vergl. hier die Tabelle p. 161).

Aus der Tabelle geht deutlich hervor, daß die durch Filtration und Umrechnung gewonnenen Werte den tatsächlich vorhandenen Ammoniakgehalt, wie den vorhandenen Gesamtstickstoff nicht sicher zum Ausdruck bringen. Es ist daher für die Benutzung der Peptonlösungen zur Fäulnisuntersuchung künftig zu empfehlen, daß nur immer ganze, unfiltrierte Lösungsmengen zur Untersuchung kommen. Man erhält so sichere Resultate, und vermeidet dabei eine umständliche und immer unsichere Umrechnung.

Daß bei dem vorgeschlagenen Verfahren auch noch andere Fehlerquellen vermieden werden, erhellt aus der Beobachtung der bei der 12 Tage gefaulten Lösung erhaltenen Werte. Hier ergibt die unfiltrierte Lösung bei Rosenthal größere, bei Büttgenbach etwas und bei Büttgenbach-Heideboden wesentlich geringere Werte als die filtrierte und umgerechnete. Es dürfte als Veranlassung für dies eigenartige Verhalten der Umstand in Frage kommen, daß die filtrierte Lösung aus dem Gefäß stammte, das bereits nach 6 Tagen 35 ccm Lösung abgegeben hatte. Damit war die Flüssigkeitsmenge vermindert, die Durchlüftung und die Oberfläche vermehrt und so wahrscheinlich die Fäulnis bzw. die Ammoniakbildung verstärkt worden, was zumal bei den Böden mit schwächerer und schwacher Fäulniskraft zum Ausdruck kam. Der Umstand, daß nach 6 Tagen ein erheblicher Unterschied zwischen filtrierter und unfiltrierter Lösung bei der Ammoniakbestimmung sich nur für den Rosenthalboden zeigt, mag vielleicht darauf zurückzuführen sein, daß dieser bereits größere Ammoniakmengen gebildet hatte, auch wegen seines zweifellos größeren Zeolithgehaltes rascher absorptiv wirkte, als der wohl vorwiegend durch seinen Humus das ähnliche Endergebnis erzielende Büttgenbachboden.

Fasse ich nun die Ergebnisse der vorstehenden Ausführungen zusammen, so wurde gefunden:

1) Die bei Fäulnis von mit Erde geimpften und dann filtrierten Peptonlösungen scheinbar auftretenden Stickstoffverluste sind in Wirklichkeit durch absorptive und weniger durch biologische Festlegung von Stickstoff in dem abfiltrierten Boden zu erklären. Wahrscheinlich gilt das Gleiche für in der Literatur unter ähnlichen Verhältnissen mitgeteilte Stickstoffverluste. (So Löhnis am angeführten Ort, und Krause<sup>1)</sup>, der bei Torfzusatz in der abgeheberten Flüssigkeit sehr bedeutende Stickstoffverluste fand.)

2) Bei Benutzung von Peptonlösungen zur Feststellung der Fäulniskraft von Ackerböden ist von Filtration

1) Journal für Landwirtschaft. Bd. XXXVIII. p. 1.

Es fand sich Stickstoff in je 100 cem 1-proz. Peptonlösung plus 10 g Boden:

Zur Impfung benutzter Boden	Lösung unge- fault, auf Ammon destill. ohne Filtration ganze Lösung untersucht		Lösung unge- fault, auf Gesamtstickstoff verbrannt, ohne Filtration, ganze Lösung unter- sucht		Lösung 6 Tage gefault, auf Ammon destilliert, ohne Filtration, ganze Lösung 25 cem <sup>1)</sup> untersucht		Lösung 12 Tage gefault, auf Ammon destilliert, ohne Filtration, ganze Lösung 25 cem <sup>1)</sup> untersucht		Lösung 12 Tage gefault, auf Gesamtstickstoff verbrannt, ohne Filtration, ganze Lösung 10 cem <sup>1)</sup> untersucht	
	mg		mg		mg		mg		mg	
Blinde Pepton- lösung, ungeimpft	1,59		143,90							
	1,87		146,76							
	1,82		143,86							
	1,64		144,30							
Rosenthalboden	1,73		144,71							
	$r = \pm 0,0949$		$r = \pm 0,9337$							
	$R = \pm 0,0475$		$R = \pm 0,4669$							
	3,46		168,30		47,63		99,25		169,39	112,57
Büttgenbachboden	3,08		172,12		51,04	verloren	91,80		166,73	113,60
	2,48		169,16		53,25		97,64		verloren	118,47
	1,41		167,46		54,86		96,07		169,02	111,64
	2,41		169,26		51,70		96,19		168,05	114,07
Büttgenbachboden	$r = \pm 0,6226$		$r = \pm 1,4545$		$r = \pm 2,1111$		$r = \pm 2,1595$		$r = \pm 0,6447$	$r = \pm 2,0509$
	$R = \pm 0,3113$		$R = \pm 0,7273$		$R = \pm 1,0555$		$R = \pm 1,0698$		$R = \pm 0,4559$	$R = \pm 1,0254$
	2,01		166,15		35,00		90,35		167,41	121,74
	2,36		167,32		30,45		verloren		167,32	131,09
Büttgenbach-Heide- boden	1,29		165,65		28,61		91,00		166,85	132,77
	2,29		166,01		28,97	verloren <sup>2)</sup>	85,53	verloren <sup>2)</sup>	168,48	verloren <sup>2)</sup>
	1,99		166,28		30,76		88,96		167,52	128,53
	$r = \pm 0,3298$		$r = \pm 0,4877$		$r = \pm 1,9818$		$r = \pm 2,0155$		$r = \pm 0,4645$	$r = \pm 4,0084$
Büttgenbach-Heide- boden	$R = \pm 0,1649$		$R = \pm 0,2438$		$R = \pm 0,9909$		$R = \pm 1,1637$		$R = \pm 0,2322$	$R = \pm 2,3142$
	2,40		168,66		24,35		62,05		168,58	127,82
	1,65		167,68		23,40	verloren	61,42		167,31	126,79
	2,46		170,31		24,26		63,80		167,90	127,63
Büttgenbach-Heide- boden	1,41		170,69		26,35		63,36		167,20	121,27
	1,98		169,34		24,59		62,66		167,75	125,88
	$r = \pm 0,3570$		$r = \pm 0,9523$		$r = \pm 0,8425$		$r = \pm 0,7490$		$r = \pm 0,4279$	$r = \pm 2,0937$
	$R = \pm 0,1785$		$R = \pm 0,4762$		$R = \pm 0,4212$		$R = \pm 0,3745$		$R = \pm 0,2139$	$R = \pm 1,0469$

1) Das Untersuchungsergebnis ist unter Berücksichtigung der Verdunstung jeweilig auf die ganze Lösung umgerechnet worden, um einen Vergleich mit den anderen Werten zu ermöglichen.

2) Die 3-mal zu benutzende Vergleichslösung ging bereits vor der ersten Entnahme verloren.

und Benutzung von Teilmengen der angesetzten Lösungen abzusehen, und nur der Gesamteinhalt der angesetzten Kölbchen auf Ammoniak bzw. Gesamtstickstoff zu untersuchen.

3) Auch die vorliegenden Untersuchungen haben wieder dargetan, daß nicht nur verschiedene Böden, sondern auch gleiche Böden, die erheblich verschieden behandelt worden sind, durch Impfung von Peptonlösungen nennenswerte Unterschiede in ihrer Fäulniskraft dokumentieren.

Noch sei erwähnt, daß für die in meinen Paralleluntersuchungen vorkommenden Differenzen teilweise der Umstand maßgebend gewesen sein dürfte, daß es mir nicht möglich war, die zur Impfung benutzte Erde vorher zu sieben, ohne eine erhebliche Fremdinfection bzw. eine Beeinflussung der Bakterienflora befürchten zu müssen, deren Nachteile die geringen Vorteile des Absiebens vielleicht überwogen hätten. Es war also die Möglichkeit, daß teilweise in dem Erdquantum Steine enthalten waren, und die Stickstoffausbeute beeinflussten, nicht ausgeschlossen. Außerdem wird nach Baumann bei Destillation mit *Magnesia usta* auch aus Amidstickstoff ein geringer Teil desselben als Ammoniak abgespalten, und zwar je nach der Zeit des Kochens u. s. w. verschieden viel<sup>1)</sup>. Die hierin liegende Fehlerquelle ist kaum zu vermeiden. Zwar soll durch Verwendung von Baryumkarbonat nach Hart<sup>2)</sup> alles Ammoniak erhalten und weniger aus Amidstickstoff abgespalten werden, als durch *Magnesia usta*, indes glaubte ich zunächst auch im Interesse der Vergleichbarkeit meiner Zahlen bei der bisher angewandten Methode bleiben zu sollen.

### A n h a n g.

In verschiedenen Veröffentlichungen der letzten Zeit, besonders aber in der bereits zitierten Habilitationsschrift kommt L ö h n i s auf frühere Untersuchungen von mir zurück, um in ihnen Fehler nachzuweisen. Eine eingehende Erwiderung hierauf würde ziemlich umfangreich ausfallen müssen und dabei für die Leser, welche gewöhnt sind, sich ein eigenes Urteil zu bilden, unnötig und uninteressant sein. Nur um nicht des Schweigens wegen der Zustimmung beargwöhnt zu werden, will ich an zwei Beispielen die Berechtigung von ähnlichen Beanstandungen erweisen:

Seite 30 seiner mehrerwähnten Arbeit bemängelt L ö h n i s den Umstand, daß die Proben bei meinen Untersuchungen<sup>3)</sup> zum Teil erst einige Zeit bei 3 ° aufbewahrt und nicht sofort verarbeitet worden seien. Daß diese Verzögerung nur den für die Durchführung der Versuche notwendigen, sich häufenden Arbeiten entsprach, liegt auf der Hand und dürfte auch aus diesbezüglich meinerseits gemachten Mitteilungen un schwer zu ersehen sein. In seiner eigenen Arbeit bringt L ö h n i s zunächst die Mitteilung, daß auch er die Verarbeitung sämtlicher Proben an einem Tage nicht habe erledigen können<sup>4)</sup>, und dann sogar noch Zahlen dafür, daß längere Aufbewahrung von Erdproben bei Zimmer-

1) Landw. Versuchsstationen. Bd. XXXIII. p. 247.

2) Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXIII. p. 354.

3) Landw. Jahrbücher. 1904. Heft 1. p. 20.

4) a. a. O. p. 16.



temperatur keinen erheblichen Einfluß auf das Verhalten in Lösungen ausgeübt hätte. Ob in dieser Hinsicht nicht Aufbewahrung auf Eis noch günstiger wirken kann, sei dahingestellt, schwerlich wird sie aber schädlicher sein. — Seite 41 der erwähnten Arbeit, wie auch an anderen Orten wendet Löhnis gegen die von mir durchgeführte Bestimmung des Nitrits in Lösungen ein, daß hierbei der Nitritgehalt der Laboratoriumsluft sehr störend wirken kann. Er übersieht hierbei zunächst, daß ich stets<sup>1)</sup> mit drei blinden Bestimmungen arbeitete, also irgendwie erhebliche Beeinflussungen des Nitritgehaltes durch die Laboratoriumsluft nicht unbemerkt geblieben wären, dann aber, daß er selbst für die relativ geringe Bedeutung des Gehaltes der Laboratoriumsluft an gebundenem Stickstoff unter normalen Verhältnissen in seinen „Beiträgen zur Kenntnis der Stickstoffbakterien“<sup>2)</sup> Zahlenangaben bringt. Zu bemerken ist noch, daß es sich bei den von mir festgestellten Nitritverlusten zum Beispiel meist um Mengen von 30—50 mg pro Tag und Liter handelt.

Zum Schluß möchte ich noch mit einigen Worten auf den bereits besprochenen Umstand eingehen, daß es mir nicht möglich war, ebenso gute Uebereinstimmungen bei der Stickstoffbestimmung von mit Erde beimpften Fäulnislösungen zu erzielen, wie dies Löhnis in der erwähnten Arbeit für seine mit Erde geimpften Kalkstickstoff- und Knochenmehllösungen gelang. Einige Gründe hierfür waren bereits erwähnt, die bei ihm vielleicht nicht in gleicher Weise eingewirkt haben. Im übrigen haben auch andere Forscher bei vergleichenden Erduntersuchungen meist mit großen Differenzen zu kämpfen gehabt, wenn es sich um die Stickstoffbestimmung handelte, und es ist wohl als besonderer Glücksumstand zu bezeichnen, wenn Löhnis eine solche Uebereinstimmung für die direkt zusammengehörigen Werte erzielen konnte.

Denn daß für nicht direkt zusammengehörende, für je 5 g der in die Lösungen eingebrachten Erde sich berechnende Stickstoffwerte zum Teil auch bei Löhnis sich etwas größere Abweichungen ergeben, die nicht ohne weiteres aus seinen Zahlen zu ersehen sind, sei aus den folgenden Berechnungen entnommen:

Löhnis impft Knochenmehllösungen, die 16,66 mg Stickstoff enthalten, mit je 5 g Erde vom Leipziger Versuchsfeld. Die von diesen geimpften Lösungen, soweit sie steril erhalten wurden, gemachten Gesamtstickstoffbestimmungen müssen also, wenn man für den ursprünglichen Stickstoffgehalt der Lösung die 16,66 mg abzieht, den Stickstoffgehalt der hineingebrachten 5 g Erde ergeben. Er beträgt im Maximum 4,73 mg, im Minimum 3,66 mg, die Höchstdifferenz ist also 1,07 mg Stickstoff.

Ebenso behandelt Löhnis Kalkstickstofflösungen, die 18,10 mg Stickstoff enthalten, mit je 5 g Erde gleicher Herkunft. Stellt man ebenso, wie bei den Knochenmehllösungen, den Stickstoffgehalt der hineingebrachten 5 g Boden fest, so beträgt er im Maximum 6,36 mg, im Minimum 5,10 mg, die Höchstdifferenz ist also 1,26 mg Stickstoff.

Diese Differenzen sind für Erdbestimmungen in 5 g als leidlich günstig zu bezeichnen. Vergleicht man aber den Gehalt der 5 g in Knochenmehllösungen gebrachten Erde mit dem der 5 g in Kalkstickstofflösungen gebrachten Erde, — wobei bemerkt sei, daß es sich um

1) Landw. Jahrb. 1904. Heft 1. p. 12.

2) Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 597.

den gleichen Leipziger Versuchsfeldböden handelt, — so ergibt sich, daß derselbe Boden, der innerhalb der gleichen Reihe so schöne Uebereinstimmungen im Stickstoffgehalt aufwies, beim Vergleich der für die zwei verschiedenen Reihen gemachten Bestimmungen erheblich höhere Differenzen bringt. Es war nämlich bei

Boden, verbraucht in	Stickstoffgehalt in 5 g des gleichen Bodens			
Knochenmehllösung	4,73 mg im Maximum	3,66 mg im Minimum		
Kalkstickstofflösung	6,36 " " "	5,10 " " "		
Differenz zwischen den Bestimmungen in den zwei verschiedenen Lösungen:	1,63 mg	1,44 mg		

Ja, die Differenz zwischen dem höchsten, in Kalkstickstofflösung erzielten und dem niedrigsten, in Knochenmehllösung ermittelten Werte, die Höchstdifferenz, beträgt sogar 2,70 mg.

Aehnliche Zahlen ergeben sich, wenn man den Wert für die 5 g Erde berechnet, die am gleichen Tage, der gleichen Probe entnommen, und nur teils in Knochenmehllösung, teils in Kalkstickstofflösung verbraucht sind, die also recht eigentlich Parallelbestimmungen darstellen müßten:

Bei „Untersuchung vom November“ und „nicht geschälter Parzelle“ ergeben sich, wenn man wieder den Wert für die Knochenmehllösung bzw. Kalkstickstofflösung abzieht, für die der gleichen Probe entstammenden 5 g Boden:

5 g in Knochenmehllösung verbraucht	enthalten	4,66 mg Stickstoff	
5 „ „ Kalkstickstofflösung	„	6,36 „	„
Differenz		1,70 „	„

Man sieht also, daß mit einer gewissen Berechtigung davon gesprochen werden kann, daß für die günstigen Uebereinstimmungen der Stickstoffwerte innerhalb der einzelnen Lösungsreihen von Löhnis besonders glückliche Zufälle maßgebend gewesen sein dürften. Denn die bei Vergleich verschiedener Lösungsreihen für ganz gleiche Erdmengen aus gleichen Proben errechneten Abweichungen sind, obwohl auch noch nicht besonders groß, doch derart, daß ihre geringste immer noch nennenswert größer ist, als die größte innerhalb der gleichen Lösungsreihe.

*Nachdruck verboten.*

## **Experimentelle Untersuchungen über Sterilisierung der Milch mit Wasserstoffsuperoxyd, unter spezieller Berücksichtigung des von Budde angegebenen Verfahrens.**

[Aus der bakteriol. Abteilung des Hygiene-Institutes der Universität Zürich. Abteilungsvorstand: Privatdozent Dr. W. Silberschmidt.]

Von **Mstislaw Lukin**, Moskau.

(Schluß.)

### **Schlußfolgerungen.**

1) Milch kann durch Zusatz von  $H_2O_2$  sterilisiert werden; die Wirksamkeit von  $H_2O_2$  ist abhängig von der Reaktion; in neutraler oder in schwach alkalischer Lösung wirkt Wasserstoffsuperoxyd viel stärker, in saurer Lösung dagegen schwächer bakterizid. Das käufliche sogenannte „technische“  $H_2O_2$  enthält stets, allerdings in verschiedener Menge, HCl; es ist daher erforderlich, das Präparat zu neutralisieren, und zwar erst unmittelbar vor dessen Anwendung.

2) Die Temperatur übt einen großen Einfluß auf die bakterielle Wirkung des  $H_2O_2$  aus; je niedriger die Temperatur, um so geringer die Wirkung. Quantitative Untersuchungen haben ergeben, daß zur Sterilisierung der Milch bei Zimmertemperatur eine größere Menge  $H_2O_2$  erforderlich ist als bei Bruttemperatur. In unseren Versuchen hat sich die Temperatur von  $52^\circ C$ , welche von Budde empfohlen wurde, als noch günstiger erwiesen, indem die zur Sterilisierung der Milch erforderliche Menge  $H_2O_2$  hierbei auf ein Minimum reduziert wird.

3) Die Menge der Bakterien in der Milch ist bei der Sterilisierung mit  $H_2O_2$  allein ebenfalls von Bedeutung. Die zur Sterilisierung erforderliche Menge  $H_2O_2$  steigt mit der Bakterienzahl, namentlich bei Zimmer- oder bei Bruttemperatur. Der Einfluß der Keimzahl ist bei Anwendung des Buddeschen Verfahrens ( $52^\circ$ ) nicht mehr so deutlich.

4) Zur Sterilisierung der Milch bei gewöhnlicher oder bei Bruttemperatur ist eine verhältnismäßig große Menge  $H_2O_2$  erforderlich; in unseren Versuchen 0,07—1,5 Proz., was einem Zusatz von 24,5—600 ccm des 3-proz. Präparates pro Liter entspricht. Dieses Verfahren ist praktisch nicht anwendbar. Die so behandelte Milch wird zu stark verdünnt und ist wegen des unangenehmen Geschmackes nicht genießbar. Meine Resultate stimmen mit den von Fr. Chick erhaltenen überein.

5) Die von Budde angegebene Methode der Sterilisierung der Milch — Verwendung von  $H_2O_2$  unter gleichzeitiger Erwärmung auf  $52^\circ C$  — ist sowohl für die Markt- als für die frisch gemolkene Milch anwendbar. In Uebereinstimmung mit den Angaben von Budde war auch in unseren Versuchen ein Zusatz von 0,036 Proz. oder ca. 12 ccm 3-proz.  $H_2O_2$  pro Liter ausreichend. Nur bei sehr keimreicher Milch ist ein etwas höherer Zusatz (0,05 Proz.) erforderlich.

6) Dieselbe Menge  $H_2O_2$  (0,036 Proz.) war vollständig ausreichend zur Abtötung von Heubacillus, Bact. coli commune, und Streptokokken, welche der Milch in großer Zahl beigemischt worden waren.

7) Die buddisierte Milch enthält noch geringe Mengen  $H_2O_2$ , welche auch am Beigeschmack erkenntlich sind. Vom hygienischen und vom praktischen Standpunkte aus ist eine völlige Entfernung des  $H_2O_2$  aus der Milch erforderlich. Unsere Versuche mit Zusatz von Blutserum, von Fibrin, von Fleisch und von Hühnereiweiß haben in Bezug auf Katalyse kein befriedigendes Resultat ergeben. Es sind noch weitere diesbezügliche Untersuchungen wünschenswert.

Nachdem wir uns mit allen Eigenschaften des  $H_2O_2$  und seiner Wirkung auf die Milch vertraut gemacht haben, müssen wir konstatieren, daß das Buddesche Verfahren zur Sterilisierung der Milch in vieler Hinsicht alle anderen bis jetzt angewendeten Methoden übertrifft. Ich möchte in kurzen Worten die Hauptvorteile formulieren:

1) Die Methode von Budde braucht infolge der großen bakteriziden Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds zur Sterilisation der Milch eine sehr unbedeutende Menge desselben. Die entsprechenden Versuche bestimmen die dazu nötige Menge auf ca. 0,036 Proz.

2) Der größte Teil des der Milch zugesetzten  $H_2O_2$  wird in  $H_2O$  und  $O$  zerlegt. Diese Eigenschaft verleiht dem  $H_2O_2$  einen großen Vorteil vor dem Formalin, das nicht in ähnlicher Weise zersetzt wird.

3) Wasserstoffsuperoxyd erzeugt, soviel uns bis jetzt bekannt, keine Zerstörung, ja nicht einmal eine Verminderung der Wirkung der in der Milch vorhandenen Enzyme.

4) Die physikalischen Eigenschaften der Milch sollen von  $H_2O_2$  unbeeinflusst bleiben; nach den neuesten Untersuchungen von De Waele, Sugg et Vandeveld (26) bewirkt  $H_2O_2$  nur eine partielle Peptonisierung der Eiweißkörper. „La coagulation par le lab est un peu plus lente, ce qui est dû à la peptonisation partielle de la caséine; elle se fait en flocons plus fins et moins compacts que dans le lait de vache ordinaire.“ — „Ce lait peut donc convenir très bien pour l'alimentation, spécialement du nourrisson. On peut lui faire subir au préalable les coupages et mélanges nécessaires pour cet usage.“

5) Nach Sieber und Löwenstein besitzt  $H_2O_2$  neben der bakteriziden noch eine deutlich giftzerstörende Wirkung; die Antitoxine sollen hingegen unverändert bleiben.

6) Auch verhältnismäßig große Dosen  $H_2O_2$ , per os eingeführt, wie es Versuche von Althoefer, Schwerin, Rosam u. a. zeigten, rufen keine krankhaften Erscheinungen hervor. Um so eher gilt das von der buddisierten Milch, die ja nur minimale Quantitäten  $H_2O_2$  enthält. Die Beobachtungen von Lindman bieten in dieser Richtung ein sehr großes Interesse dar, da er die buddisierte Milch bei akuten Magen- und Darmkrankheiten anwandte.

7) Da nach dieser Methode nur eine Erwärmung bis auf  $52^\circ C$  zustande kommt, so behält die Milch den Geschmack der rohen, was eine große Rolle für viele Konsumenten spielt.

Von den Nachteilen dieser Methode seien erwähnt:

1) Der Hauptnachteil besteht darin, daß die buddisierte Milch eine — wenn auch sehr geringe — Menge von  $H_2O_2$  enthält.

2) Der so unzersetzt zurückbleibende Teil des  $H_2O_2$  verleiht der

Milch einen — allerdings sehr geringen — unangenehmen metallischen Nachgeschmack, welcher aber nicht von allen Konsumenten wahrgenommen wird.

3) Das chemisch reine, von der Firma Merck in Darmstadt hergestellte  $H_2O_2$  Perhydrol ist z. Z. zu teuer. Dasselbe wird wohl bei größerer Nachfrage billiger verkauft werden. In dem billigeren „technischen“ Präparat sind schädliche Stoffe, Chlorbarium und vor allem Arsen (Barthel) nachgewiesen worden. Man darf nicht vergessen, daß das von uns benutzte Präparat bis jetzt hauptsächlich nur für technische Zwecke angewandt wurde, und daß es dabei auf seine Reinheit nicht ankam. Wenn es aber zu Zwecken der Milchsterilisation in großen Quantitäten rein dargestellt werden sollte, würden gewiß auch Mittel dazu leicht gefunden werden. Das Angebot richtet sich nach der Nachfrage. Dasselbe gilt auch für den Kaufpreis des  $H_2O_2$ . Wenn es jetzt 80 Cts. pro Liter (Kahlbaum) kostet, wird es bei Erhöhung der Nachfrage viel billiger kommen.

4) Außerdem ist noch zu bemerken, daß bei langem Stehen der Milch der ganze Rahm sich auf der Oberfläche absondert. Je länger die Milch aufbewahrt wird, desto vollkommener ist diese Sonderung. Dem vorzubeugen, wäre es vielleicht wünschenswert, das Buddisieren mit der Homogenisierung zu verbinden, derart, daß die homogenisierte Milch gleich nach Budde behandelt werden könnte. Der Preis der Milch würde sich zwar bedeutend steigern; sie würde aber viele wertvolle Eigenschaften erwerben.

5) Bis jetzt sind unangenehme Wirkungen auch nach längerem Genuß von  $H_2O_2$  beim Menschen nicht beobachtet worden. Da aber eine gewisse Veränderung der Eiweißstoffe nachgewiesen worden ist, erscheint es doch wünschenswert, durch weitere Untersuchungen die Unschädlichkeit des Präparates nachzuweisen.

Die Aufgabe der weiteren Forschung auf diesem Gebiete liegt hauptsächlich in der Beseitigung der angeführten Nachteile, welche von Budde gar nicht berücksichtigt wurden, und welche z. Z. noch nicht gestatten, Wasserstoffsuperoxyd als ein allen Anforderungen entsprechendes Mittel zur Sterilisierung und Konservierung der Milch zu bezeichnen. Die angeführten Mängel erscheinen aber nicht derart, daß dieselben nicht gehoben werden könnten. Wir dürfen vielmehr erwarten, daß ein verbessertes Buddesches Verfahren in Bälde als eines der zweckmäßigsten zur Sterilisierung und Konservierung der Milch und der Milchprodukte gelten werde.

Zum Schlusse sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Privatdoz. Dr. W. Silberschmidt für die Anregung zu dieser Arbeit, für das Entgegenkommen bei der Durchführung der Versuche und bei der Zusammenfassung der Resultate meinen tiefstgefühlten Dank auszusprechen.

Tabelle I.

Sterilisierung der Marktmilch mit nicht neutralisiertem  $H_2O_2$ .  
 Marke A. Aufbewahrung der Milch bei Zimmertemperatur. Fläschchen à 100 ccm  
 Milch. 16. Juli 1904. 12 Uhr mittags.

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Zus. %	1,5 Proz.		1 Proz.		0,2 Proz.		0,1 Proz.		0,03 Proz.		Kontrolle	
	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Be- schaffen- heit der Milch	Keim- gehalt pro ccm	Be- schaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Be- schaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Be- schaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Be- schaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm
16. Juni (nach 4 Stunden)	normal	1530	normal	5920	normal	+	normal	+	normal	++	normal	++
17. Juni (nach 24 Stunden)	do.	0	„	2680	„	++	„ Reaktion sauer geronnen	—	geronnen	—	geronnen	—
18. Juni (nach 48 Stunden)	do.	0	„	140	geronnen	—	geronnen					
20. Juni (nach 4 Tagen)	do.	0	„	760								
24. Juni (nach 8 Tagen)	do.	0	„	10 980								
28. Juni (nach 12 Tagen)	do.	0	„	16 980								
4. Juli (nach 18 Tagen)	do.	0	geronnen									

Erklärung der Zeichen: 0 keimfrei, + mehr als 50 000 Kolonien pro Kubikcentimeter, ++ unzählige Kolonien pro Kubikcentimeter.

Tabelle II.

Sterilisierung der Marktmilch mit neutralisiertem  $H_2O_2$ . Marke K. Aufbewahrung der Milch bei Zimmertemperatur. Fläschchen à 100 ccm Milch. 26. Okt. 1904.

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Zus. ‰	1 Proz.		0,5 Proz.		0,2 Proz.		0,1 Proz.		Kontrolle	
	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro cem	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro cem	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro cem	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro cem	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro cem
26. Okt. (nach 5 Stunden)	normal	—	normal	—	normal	—	normal	—	normal	++ ver- flüss.
27. Okt. (nach 24 Stunden)	„	0	„	0	„	7 220	„	16 960	„	++ ver- flüss.
28. Okt. (nach 48 Stunden)	„	0	„	0	„	2 060	„	39 820	geronnen	—
29. Okt. (nach 3 Tagen)	„	0	„	0	„	9 240	„	+ ver- flüss.		
1. Nov. (nach 6 Tagen)	„	0	„	0	„	23 040	geronnen	—		
5. Nov. (nach 10 Tagen)	„	0	„	0	„	+ ver- flüss.				

Tabelle III.

Sterilisierung der Marktmilch mit nicht neutralisiertem  $H_2O_2$ . Marke A.  
Aufbewahrung der Milch bei Bruttemperatur (37° C). Fläschchen à 100 ccm Milch.  
17. Juni 1904 12 Uhr mittags.

$H_2O_2$ Zusatz %	1,5 Proz.		1 Proz.		0,5 Proz.		0,2 Proz.		Kontrolle	
	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm
17. Juni (nach 5 Stunden)	normal	260	normal	7160	normal	+	normal	+	normal	++
18. Juni (nach 24 Stunden)	"	0	"	0	"	+	geronnen	—	geronnen	—
20. Juni (nach 3 Tagen)	"	0	"	0	geronnen	—				
22. Juni (nach 5 Tagen)	"	0	"	0						
28. Juni (nach 11 Tagen)	"	0	"	0						
7. Juni (nach 20 Tagen)	"	0	"	0						

Tabelle IV.

Sterilisierung der Marktmilch mit nicht neutralisiertem  $H_2O_2$ . Marke K.  
Aufbewahrung der Milch bei Bruttemperatur (37° C). Fläschchen à 100 ccm Milch.  
24. Juni 1904.

$H_2O_2$ Zusatz %	1 Proz.		0,5 Proz.		0,2 Proz.		Kontrolle	
	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm
24. Juni	normal	—	normal	—	normal	—	normal	++
25. „ (nach 24 Stunden)	"	0	"	100	"	+	geronnen	—
28. „ ( „ 4 Tagen)	"	0	"	0	"	0		
2. Juli ( „ 8 „ )	"	0	"	0	"	0		
8. „ ( „ 14 „ )	"	0	"	0	"	0		

Tabelle V.

Sterilisierung der Marktmilch mit neutralisiertem  $H_2O_2$ . Aufbewahrung  
der Milch bei Bruttemperatur. Fläschchen à 100 ccm Milch. 26. Oktober 1904.

$H_2O_2$ Zusatz %	1 Proz.		0,5 Proz.		0,2 Proz.		0,1 Proz.		Kontrolle	
	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm
26. Okt.	normal	—	normal	—	normal	—	normal	—	normal	++
27. „ (nach 24 Stunden)	"	0	"	0	"	40	"	++ verflüss.	geronnen	—
29. Okt. (nach 3 Tagen)	"	0	"	0	"	0	geronnen	—		
1. Nov. (nach 6 Tagen)	"	0	"	0	"	0				
5. Nov. (nach 10 Tagen)	"	0	"	0	"	0				



Tabelle VI.

Sterilisierung der frisch gemolkenen Milch mit neutralisiertem  $H_2O_2$ .  
Aufbewahrung der Milch bei Zimmertemperatur. Die Milch wurde in einen  
sterilen Kolben gemolken, sofort ins Institut gebracht, in Flaschen à 100 ccm verteilt  
und verarbeitet. 5. Juli 1904.

$H_2O_2$ Zus. %	1 Proz.		0,5 Proz.		0,2 Proz.		0,1 Proz.		0,07 Proz.		Kontrolle	
	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm
5. Juli	normal	—	normal	—	normal	—	normal	—	normal	—	normal	3580
6. „ (nach 24 Stunden)	„	0	„	0	„	0	„	0	„	20	„	47 180
7. Juli (nach 48 Stunden)	„	0	„	0	„	0	„	0	„	0	„	++
8. Juli (nach 3 Tagen)	„	0	„	0	„	0	„	0	„	360	geronnen	—
9. Juli (nach 4 Tagen)	„	0	„	0	„	0	„	0	„	480		
13. Juli (nach 8 Tagen)	„	0	„	0	„	0	„	0	„	980		
18. Juli (nach 13 Tagen)	„	0	„	0	„	0	„	0	„	8740		
25. Juli (nach 20 Tagen)	„	0	„	0	„	0	„	0	geronnen	—		
27. Aug. (nach 53 Tagen)	„	—	„	—	„	—	„	—				

Tabelle VII.

Die frischgemolkene Milch wurde verarbeitet wie im Versuche VI. Auf-  
bewahrung der Milch bei Bruttemperatur. 8. Juli 1904.

$H_2O_2$ Zusatz %	0,2 Proz.		0,1 Proz.		0,07 Proz.		Kontrolle	
	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffen- heit der Milch	Keimgehalt pro ccm
8. Juli	normal	—	normal	—	normal	—	normal	2920
9. „ (nach 24 Stunden)	„	0	„	0	„	0	„	++
11. „ ( „ 3 Tagen)	„	0	„	0	„	0	geronnen	—
13. „ ( „ 5 „ )	„	0	„	0	„	0		
16. „ ( „ 8 „ )	„	0	„	0	„	0		
20. „ ( „ 12 „ )	„	0	„	0	„	0		
7. Aug. ( „ 30 „ )	„	—	„	—	„	—		



Tabelle VIII.  
Verfahren nach Budde.

Sterilisierung der frischgemolkenen Milch mit neutralisiertem  $H_2O_2$ . Aufbewahrung der Milch bei Zimmertemperatur. Die Milch wurde in einen sterilen Kolben gemolken, sofort ins Institut gebracht, in Flaschen à 300 ccm verteilt und nach der Buddeschen Methode verarbeitet. Der Zeitraum zwischen Melken und Bearbeitung der Milch betrug nicht mehr als  $\frac{1}{2}$  Stunde. 2. Febr. 1905.

$H_2O_2$ Zusatz %	0,036 Proz.		0,03 Proz.		0,025 Proz.		0,02 Proz.		Kontrolle	
	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm
2. Febr.	normal	0	normal	0	normal	0 <sup>1)</sup>	normal	0 <sup>2)</sup>	normal	15640
4. Febr. (nach 2 Tagen)	"	0	"	0	"	vorhand.	"	vorhand.	"	++
6. Febr. (nach 4 Tagen)	"	—	"	—	"	—	"	—	geronnen	—
7. Febr. (nach 5 Tagen)	"	—	"	—	"	—	"	—		
8. Febr. (nach 6 Tagen)	"	0	"	0	"	vorhand.	"	vorhand.		
14. Febr. (nach 12 Tagen)	"	0	"	0	"	+	"	++		
17. Febr. (nach 15 Tagen)	"	0	"	0	"	+	normal. Reaktion sauer	—		
19. Febr. (nach 17 Tagen)	"	—	"	—	"	—	geronnen	—		
22. Febr. (nach 20 Tagen)	"	0	"	0	"	++				

Tabelle IX.  
Verfahren nach Budde.

Sterilisierung der Marktmilch. Neutralisiertes  $H_2O_2$ . Aufbewahrung der Milch bei Zimmertemperatur. Bearbeitung nach der Buddeschen Methode. Flaschen à 700 ccm Milch. 18. Januar 1905.

$H_2O_2$ Zusatz %	0,05 Proz.		0,036 Proz.		0,03 Proz.		Kontrolle	
	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm
18. Januar	normal	0	normal	0	normal	0	normal	275 000 — 285 000
21. Jan. (nach 3 Tagen)	"	0	"	0	"	vorhand.	"	++
22. " " 4 "	"	—	"	—	"	—	geronnen	—
24. " " 6 "	"	0	"	0	"	vorhand.		
28. " " 10 "	"	0	"	0	"	vorhand.		
4. Febr. (nach 17 Tagen)	"	0	"	0	"	+		
11. " " 24 "	"	—	"	—	"	—		

1) Eine Kolonie (Schimmelpilz), 2) eine Kolonie.

Tabelle X.  
Verfahren nach Budde.

Sterilisierung der sehr keimreichen Milch. Um die Zahl der Keime zu erhöhen, wurde die Marktmilch auf 14 Stunden bei 22° C in den Gelatineschrank gestellt. Flaschen à 300 ccm Milch. Neutralisiertes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Bearbeitung nach der Methode von Budde. 18. Februar 1905.

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Zus. %	0,1 Proz.		0,07 Proz.		0,05 Proz.		0,036 Proz.		0,03 Proz.		Kontrolle	
	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm
18. Februar	normal	0	normal	0	normal	0 <sup>1)</sup>	normal	0 <sup>2)</sup>	normal	120	normal	4 000 000– 4 500 000
20. Februar (nach 2 Tgn.)	„	0	„	0	„	0	„	vorhand. (sehr wenig)	„	vorhand.	normal. Reaktion sauer	—
21. Februar (nach 3 Tgn.)	„	—	„	—	„	—	„	—	„	—	geronnen	—
25. Februar (nach 7 Tgn.)	„	0	„	0	„	0	„	620	„	++		
1. März (nach 11 Tgn.)	„	0	„	0	„	0	„	25440	geronnen	—		
9. März (nach 19 Tgn.)	„	0	„	0	„	0	geronnen	—				
20. März (nach 30 Tgn.)	„	0	„	0	„	0						

Tabelle XI.  
Verfahren nach Budde.

Sterilisierung der mit Streptococcus infizierten Milch. Die Milch wurde 3 Tage nacheinander je 1/2 Stunden lang im Dampftopfe erhitzt. Nach Abkühlung auf 35° C wurde 1 l der so vorbehandelten Milch mit ca. 1 ccm einer üppigen, 2-tägigen Bouillonkultur von Streptococcus infiziert, dann 5 Stunden im Brutschranke gehalten und endlich mit neutralisiertem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> buddisiert. 9. Dezember 1904.

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Zusatz %		Buddisiert						Nicht buddisiert	
		0,05 Proz.		0,036 Proz.		Kontrolle		Kontrolle	
		Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm
9. Dezember		normal	0	normal	0	normal	0	normal	+ verflüss.
10. „	(nach 24 Std.)	„	0	„	0	„	vorhand.	„	+ verflüss.
13. „	( „ 4 Tagen)	„	0	„	0	„	+ verflüss.	„	++ verflüss.
17. „	( „ 8 „ )	„	0	„	0	„	++ verflüss.	„	++ verflüss.

1) 2 Kolonien, 2) 1 Kolonie.

Tabelle XII.

## Verfahren nach Budde.

Sterilisierung der mit *Bacterium coli commune* infizierten Milch. Verfahren wie im Versuche XI. 14. Dezember 1904.

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Zusatz %	Buddisiert								Nicht budd.	
	0,05 Proz.		0,036 Proz.		0,03 Proz.		Kontrolle		Kontrolle	
	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm
14. Dez. 1904	normal	0	normal	0	normal	0	normal	0	normal	+
15. " (nach 24 Std.)	"	0	"	0	"	0	"	1920	"	++
18. " ( " 4 Tagen)	"	0	"	0	"	0	"	+	Reakt. sauer	++
22. " ( " 8 " )	"	0	"	0	"	0	"	++	do.	++
9. Januar 1905 (nach 25 Tagen)	"	0	"	0	"	0	—	—	—	—

Tabelle XIII.

## Verfahren nach Budde.

Sterilisierung der mit *Bacillus subtilis* infizierten Milch. Verfahren wie im Versuch XI. Fläschchen à 100 ccm Milch. 14. Dezember 1904.

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Zusatz %	Buddisiert								Nicht buddis.	
	0,05 Proz.		0,036 Proz.		0,03 Proz.		Kontrolle		Kontrolle	
	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm	Beschaffenheit der Milch	Keimgehalt pro ccm
14. Dez.	normal	0	normal	0	normal	0	normal	0	normal	+
15. " (nach 24 Std.)	"	0	"	0	"	0	"	+	"	++
18. " ( " 3 Tgn.)	"	0	"	0	"	0	"	++	"	++
20. " ( " 6 " )	"	—	"	—	"	—	"	—	"	—
22. " ( " 8 " )	"	0	"	0	"	0	"	++	geronnen	—
26. " ( " 12 " )	"	0	"	0	"	0	geronnen	—	—	—
9. Januar 1905 (nach 25 Tagen)	"	0	"	0	"	0	—	—	—	—

## Literaturverzeichnis.

- 1) Gottstein, A., Virchows Archiv. Bd. CXXXIII. 1893. p. 295.
- 2) Rosam, Centralbl. f. Bakteriologie und Parasitenkunde. Abt. II. Bd. VIII. 1902.
- 3) Sieber, N., Zeitschrift für physiolog. Chemie. Bd. XXXII. 1901. Heft 6. p. 573.
- 4) Heidenhain, Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. p. 488 und 696.
- 5) van Hettinga-Tromp, Centralbl. f. Bakt. Bd. III. p. 800.
- 6) Althoefer, Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. Abt. I. p. 129.
- 7) Dieudonné, Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte. Bd. IX. 1894. p. 537.
- 8) Guttman, Virchows Arch. Bd. LXXIII. 1878. p. 23.
- 9) Schwerin, Virchows Arch. Bd. LXXIII. 1878. p. 37.
- 10) Frl. Chick, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII.

- 11) Gordan, P., Centralbl. f. Bakt. 1904. Abt. II. Bd. XIII. No. 22—23.
- 12) Uhlmann, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXV. Abt. I. p. 224.
- 13) Lux, A., Centralbl. f. Bakt. Bd. XI. Abt. II. 1903. p. 195.
- 14) Bergengrün, Ueber die Wechselwirkung zwischen  $H_2O_2$  und verschiedene Protoplasmaformen. [Diss. Dorpat.] 1888.
- 15) Richardson, Journ. chem. Soc. 1893. I. Referat: Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft. Jg. XXVI. 1893. No. 16.
- 16) Löwenstein, Wiener klin. Wochenschr. 1903. p. 1393.
- 17) Baldy, De l'eau oxygénée. Paris 1883.
- 18) Bert, P. et Regnard, P., Sur l'emploi de l'eau oxygénée en thérapeutique.
- 19) (Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1883. p. 157.)
- 20) Larrivé, L'eau oxygénée; son emploi en chirurgie. IV. Thèse. Paris 1883.
- 21) Guttman, Berliner klin. Wochenschr. Bd. XXXVIII. 1903. p. 573.  
Schepperegell, W., The use of peroxide of hydrogen in diseases of the nose, throat and ear. (Medic. record. 8. Aug. 1896).
- 22) Nowikoff, N., Ueber die therapeutische Anwendung des  $H_2O_2$ . (Med. Woche. 1903. No. 11. p. 113.)
- 23) Budde, G., Tuberculosis. (Monatsschr. des Internat. Centralbureaus zur Bekämpfung der Tuberkulose. Vol. III. 1904. No. 3.)
- 24) Kolle, Klin. Jahrb. Bd. XIII. 1904. Heft 3.
- 25) Freudenreich, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 406.
- 26) de Waele, H., Sugg, E. et Vandevelde, A. J. J., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1904. No. 1—3.
- 27) Budde, G., Milchzeitung. Organ für das Molkereiwesen und die gesamte Viehhaltung. 1904. No. 23. p. 359.
- 28) Lewin, Milchzeitung. 1904. No. 23.
- 29) Lindman, Karl, Milchzeitung. 1904. No. 23.
- 30) Barthel, Chr., Milchzeitung. 1903. No. 44.
- 31) Thenard, Handwörterbuch. Bd. XIII. 1902, p. 118—119.
- 32) Burri, Schweizer. Landwirtschaftl. Centralbl. Bd. XXI. Heft 11 und 12.
- 33) Bie, Mitteilungen aus Finsens Medicinske Lysinstitut. 1905. Heft 9.
- 34) Honsell, B., Beiträge zur klinischen Chirurgie. Bd. XXVII. 1900. Heft 1. p. 127.
- 35) v. Bruns, Berliner klin. Wochenschr. Bd. XXXVII. 1900. p. 19.

*Nachdruck verboten.*

## Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes durch Mikroorganismen <sup>1)</sup>.

[Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Literatur.]

Von Dr. J. Vogel, Posen.

(Fortsetzung.)

Ueber die von verschiedenen Seiten behauptete, bisher jedoch noch nicht einwandfrei erwiesene Fähigkeit mancher Schimmelpilze, den freien Stickstoff der Luft binden zu können, sind von einigen Forschern in den letzten Jahren Untersuchungen angestellt, bzw. fortgesetzt worden. Saida (53) konnte nachweisen, daß *Phoma betae*, *Mucor stolonifer* und *Aspergillus niger* stets freien Stickstoff assimilieren, *Endococcus purpurascens* nur bei Anwesenheit bestimmter Stickstoffverbindungen, *Acrostalagmus cinnabarinus*, *Monilia variabilis* und *Fusisporium moschatum* dagegen überhaupt nicht. Die Stickstoffsammlung trat am deutlichsten zu Tage, wenn ursprünglich schon geringe Mengen Stickstoff in den Nährlösungen enthalten waren. Für *Phoma betae* wurde diese kleine Stickstoffmenge am besten durch Zugabe von Zuckerrübendekokt zu den Nährböden beschafft. Die von

1) Siehe Jacobitz, diese Zeitschr. Bd. VII. 1901. p. 783.

Puriewitsch (54) für *Aspergillus niger* und *Penic. glaucum* behauptete Fähigkeit, bei Gegenwart kleiner Mengen gebundenen Stickstoffs den freien Stickstoff binden zu können, scheint — nach Darstellung des mir zugänglichen Referates (diese Zeitschr. Bd. X. p. 27) — nicht in wünschenswerter Weise durch einwandfreie Versuche erhärtet worden zu sein. Es scheint sich nach neueren Erfahrungen bei den Schimmelpilzen überhaupt nicht um deutlich ausgesprochene stickstoffbindende Kräfte zu handeln. Koch (18) konnte z. B. für *Asperg. niger* die von anderer Seite behauptete Fähigkeit der Stickstoffsammlung nicht bestätigen. Ebenso ergaben die Brefeldschen (55) Untersuchungen keine Anhaltspunkte dafür, daß die zuweilen beobachtete stärkere Entwicklung von Pilzen befallener Pflanzen auf eine durch diese Parasiten bewirkte Stickstoffsammlung zurückzuführen sei. Wenigstens für die Brandpilze trifft eine solche Annahme nicht zu. Ueber die Assimilation von freiem Stickstoff durch einen torfbewohnenden Pilz liegen Angaben von Ternetz (56) vor.

Mir ist es wahrscheinlich, daß manche Forscher sich durch die Ueppigkeit des Wachstums von Schimmelpilzen in stickstoffarmen Nährflüssigkeiten zuweilen zur Annahme einer Stickstoffassimilation haben verleiten lassen. Diese Ueppigkeit des Wachstums kann aber keineswegs als Maßstab für die Größe der stickstoffbindenden Energie eines Organismus dienen. Die auf stickstoffarmen Nährsubstraten heranwachsenden Kulturen können unter Umständen einen außerordentlich geringen Stickstoffgehalt aufweisen, welcher zuweilen noch nicht 1 Proz. der trocknen Kulturmasse erreicht, während in normaler Weise ernährte Bakterien durchschnittlich 10—12 Proz. Stickstoff in der Trockensubstanz enthalten. So ist es zu erklären, daß manche stark entwickelten Kulturen bei der Analyse kaum nachweisbare Mengen von Stickstoff ergeben. Auch die vollkommen „stickstofffreien“ Hefen und Schimmelpilze Claudio Fermis (diese Zeitschr. Bd. II. p. 506) waren wohl solche sehr stickstoffarmen Organismen. Winogradsky (17) hat daher mit voller Berechtigung die Forderung aufgestellt, daß jede behauptete Assimilation von freiem Stickstoff durch genaue analytische Daten zu bekräftigen ist.

Beijerinck (9) schreibt den blaugrünen Algen auf Grund seiner Erfahrungen die Fähigkeit, Stickstoff zu sammeln, zu. Er wählte bei seinen bereits besprochenen Versuchen zur Kultivierung oligonitrophiler Mikroben die Versuchsbedingungen teilweise auch derartig, daß die im Lichte bei Abwesenheit organischen Kohlenstoffs gedeihende Organismenflora zur Entwicklung kommen konnte. Bei Aussaat von Gartenerde in eine wässrige Lösung von Dikaliumphosphat (0,02:100) erhielt er eine Cyanophyceenvegetation, welche der Hauptsache nach aus *Anabaena catenula* bestand. Enthielten die Nährlösungen geringe Mengen gebundenen Stickstoffs, so traten zuerst Diatomeen und grüne Algen auf, und erst später, nachdem der Stickstoff des Nährbodens verbraucht war, Cyanophyceen. Beijerinck schließt sich der zuerst von Schlösing und Laurent geäußerten Ansicht an, daß die bei Stickstoffmangel gedeihenden Cyanophyceen den freien Stickstoff zu assimilieren vermögen. In diesen Organismen, die demnach ihre organische Substanz aus Kohlensäure und Stickstoff zu erzeugen vermögen, sind vielleicht die „Urbewohner der Erde“ zu erblicken. Auf Kieselsäure und von Stickstoff möglichst befreitem Wasseragar konnte Beijerinck Reinkulturen der oligonitrophilen Cyanophyceen erhalten. Oscillarien und Chlorophyceen gedeihen auf solchen Nährböden dagegen nicht, sie

verlangen vollständige Abwesenheit von organischem Kohlenstoff und Anwesenheit geringer Mengen von gebundenem Stickstoff. — An dieser Stelle möchte ich darauf hinweisen, daß *Azotobacter chroococcum* in bestimmten Entwicklungsstadien, wie besonders Benecke und Keutner (22) hervorhoben, mehr an eine Cyanophyceen als an ein echtes Bakterium erinnert. „Man könnte versucht sein, ihn in die Nägelische Gattung *Aphanocapsa* als farblose Parallelform einzureihen.“ Auch Heinze (11) hält die *Azotobacter*-Organismen für mehr oder weniger farblose Parallelformen zu gewissen Cyanophyceen.

Die grünen Algen, deren Unfähigkeit, freien Stickstoff zu ihrer Ernährung zu verwenden, durch Kossowitsch, sowie durch Krüger und Schneidewind erwiesen ist, können bei der Bindung des freien Stickstoffs im Boden insofern eine Rolle spielen, als sie den stickstoffsammelnden Bakterien die kohlenstoffhaltige Nahrung liefern. Stutzer (40) empfiehlt z. B. das Wachstum der Algen in humusarmen Böden durch geeignete Düngung zu unterstützen, da sie die „milchgebenden Kühe“ für die Stickstoffsammler sind. Reinke (57) hat nachgewiesen, daß die Meeres- und Süßwasseralgen an ihrer Oberfläche fast ausnahmslos mit *Azotobacter* besetzt sind. Eine einzige Zelle von *Volvox globator* ergab in einer stickstofffreien Nährlösung eine üppige *Azotobacter*-Entwicklung und einen Stickstoffgewinn von 11,6 mg. Es liegt die Annahme nahe, daß die Algen den von *Azotobacter* gebundenen Stickstoff für ihre Ernährung und weitere Entwicklung verwenden. Nach Fischer (58) scheint *Azotobacter* in ähnlicher, wenn auch loserer Symbiose mit bodenbewohnenden Oscillarien vorzukommen. Kolonien derselben ergaben bei Aussaat in Mannitnährlösung Reinkulturen von *Azotobacter*. Es ist wahrscheinlich, daß auch bei dem gemeinschaftlichen Vorkommen dieser Organismen ein gegenseitiger Austausch von Kohlenhydraten einerseits und von Stickstoffverbindungen andererseits stattfindet.

Daß die Stickstoffassimilation im Boden durch Algen günstig beeinflußt wird, folgt auch aus Versuchen von Bouilhac und Giustiniani (59). Senf, Mais, Kresse und Buchweizen entwickelten sich gut auf sterilem Boden, wenn in demselben durch absichtliche Aussaat oder spontan Algenvegetationen entstanden waren. Die stärkste Stickstoffsammlung trat in denjenigen Böden ein, welche von Anfang an mit Algen besät worden waren.

Von dem Ziele, die ohne Symbiose mit höheren Pflanzen, also die frei lebenden stickstoffsammelnden Bodenbakterien, praktisch nutzbar zu machen sind wir, wie aus der oben gegebenen Schilderung der ganzen Sachlage hervorgeht, noch weit entfernt. Immerhin hat sich die praktische Landwirtschaft die Ergebnisse der einschlägigen Forschungen besonders für die Bewirtschaftung des schweren Bodens dienstbar zu machen gesucht, indem sie der auf eine Pflege der nützlichen Bodenbakterien gerichteten Bearbeitung des Bodens erhöhtes Interesse widmet. Hierher gehören vor allem die an dieser Stelle nicht näher zu besprechenden Vorschläge von spraktischen Landwirten, wie Vibrans-Calvörde (60), welcher nachdrücklich darauf hinweist, daß auf Leimboden durch möglichst zeitigen Umbruch der Getreidestoppel erhebliche und billige Stickstoffgewinne zu erzielen sind. Schneidewind hat in der Lauchstädter Versuchswirtschaft nahezu dieselben Erfolge durch frühzeitiges Pflügen erzielt, wie durch die erheblich teurere Bestellung mit Gründüngungspflanzen. Auf der Domäne Coldingen bei Hannover konnte



die Verwendung der käuflichen, zur Zeit sehr teuren Stickstoffdünger auf ein Drittel eingeschränkt werden, seitdem durch frühzeitige und sorgsame Pflugarbeit den stickstoffsammelnden Bakterien günstige Lebensbedingungen geschaffen werden.

Auf dem Caronschen Gute Ellenbach wurden durch ein Brachjahr und frühzeitigen Stoppelumbruch die Bedingungen für 4—5 folgende Getreideernten gegeben. Auch Vibrans-Wendhausen (61, 62) hat wiederholt praktische Maßnahmen zur Pflege der Bodenbakterien empfohlen und dieselben selbst mit Erfolg durchgeführt. Löhnis (25) konnte den direkten experimentellen Beweis für den günstigen Einfluß der Bodenbearbeitung auf das Stickstoffsammelungsvermögen erbringen. Bei Anwendung seiner oben erwähnten Bodenextrakt-Nährlösung wurden pro 100 ccm Lösung innerhalb 6 Wochen an Stickstoff in Milligramm assimiliert:

	Geschälte Parzelle	Nicht geschälte Parzelle
Vor dem Schälen (25. Aug.)	11,28 Proz.	11,49 Proz.
2 $\frac{1}{2}$ Monate später (6. Nov.)	10,82 „	7,21 „
4 $\frac{1}{2}$ Monate später (15. Jan.)	11,11 „	7,00 „

Es tritt also ein deutlicher Unterschied zu Ungunsten der nicht geschälten Parzelle hervor. Systematische Versuche über die Wirkung starker Bodendurchlüftung auf den Ertrag und auf die Nitrifikation im Boden sind von Reitmair (63) in Angriff genommen worden. Die bisherigen Resultate ergaben eine günstige Wirkung der Tiefackerung, die jedoch nicht durch eine Förderung der Stickstoffsammlung, sondern durch eine Steigerung der Nitrifikationskraft des Bodens erklärt wird.

Auch die von berufener Seite in Aussicht, teils auch schon in Angriff genommenen Untersuchungen über die Brache werden, wie zu hoffen ist, wertvolle Aufschlüsse in der Frage der Stickstoffsammlung bringen. Vom Standpunkte der landwirtschaftlichen Praxis aus ist dieses Problem im Anschluß an die bekannten Caronschen Mitteilungen in den letzten Jahren behandelt worden von Cöster (64), Fruwirth (65), Droop (66), Reitmair (67), Arndt (68), Weineck (69), Kruse (70), Haedicke (71), Ulrichs (72) und zahlreichen anderen Männern der Praxis und Wissenschaft.

v. Rümker (8) ist in Uebereinstimmung mit Caron der Ueberzeugung, daß sich die Wirkung einer rationell gehandhabten Schwarzbrache auf eine längere Reihe von Jahren erstreckt. Sie ist in 2—3 Jahren keineswegs erschöpft. Er hält es vorläufig für unaufgeklärt, ob die Wirkung der Brache eine chemische, physiologische (Verwitterung, Stickstoffzufuhr durch Bakterien u. s. w.) oder eine physikalische ist. Wahrscheinlich sind alle 3 Wirkungsarten gemeinsam im Spiel, und je nach der Methode der Brachbearbeitung, je nach der Beschaffenheit des Bodens, und je nach Verlauf der Witterung wird und muß der Erfolg der Schwarzbrache ein sehr verschiedener sein. Stutzer (40) spricht die Ansicht aus, daß die Brache unter Umständen auch heute noch vollkommen existenzberechtigt ist und ein geeignetes Mittel darstellt, um bei niedrigen Bodenwerten die Beschaffenheit der Ackerkrume mit Hilfe von stickstoffsammelnden Bakterien zu verbessern. Remy (34) äußert sich dahin, daß ein unwiderleglicher Beweis für die günstige Einwirkung der Schwarzbrache auf die stickstoffsammelnden Fähigkeiten des Bodens bis jetzt nicht erbracht worden ist. „Die Brache zu empfehlen, um die stickstoffsammelnden Bakterien zu einer energischen Tätigkeit anzuspornen, ist also jedenfalls verfrüht.“ Gerlach (73) legt

einer zweckmäßigen Bodenbearbeitung ebenfalls die größte Bedeutung bei, will aber in dieser Beziehung nicht so weit gehen, wie die Befürworter der Wiedereinführung der Schwarzbrache. Er gelangt auf Grund seiner auf dem Versuchsgute Pentkowo ausgeführten Versuche zu der Ueberzeugung, daß die Brache in wenigen Ausnahmefällen wohl lohnend sein kann, im allgemeinen für mittlere und bessere Böden jedoch viel zu teuer ist. Die betreffenden Versuche sind jedoch noch nicht als abgeschlossen zu betrachten und werden weiter fortgeführt.

Hiltner und Störmer (41) führten eingehende bakteriologische Untersuchungen über die Brache aus. Sie kamen zu dem interessanten Resultat, „daß in dem gebrachten Felde, bei vollem Vorhandensein einer ausgezeichneten Gare des Bodens nicht eine Zunahme, sondern eine Abnahme der auf Gelatine gedeihenden Bodenorganismen stattgefunden hatte.“ Bedingt wurde diese Verminderung fast ausschließlich durch den Rückgang der nicht verflüssigenden Arten, sehr wenig hatten dagegen die Streptothrix-Arten, und gar nicht die verflüssigenden Bakterien abgenommen. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch mit der von Caron konstatierten starken Vermehrung der Bodenbakterien in gebrachtem Boden. Eine Erklärung für diese Differenz glauben die Verfasser in dem Umstand zu finden, daß auf dem Caronschen Gute das Unkraut während der Schwarzbrache periodisch untergepflügt wird, wodurch die Zahl der auf Gelatine wachsenden Bakterien sich bedeutend vermehren kann. Von Interesse ist mit Rücksicht auf diesen Befund die bereits erwähnte, von Heinze (11) beobachtete starke Vermehrung der Azotobacter-Zellen in gebrachtem Boden.

Nicht näher soll hier eingegangen werden auf die Nutzbarmachung des Luftstickstoffes auf chemischem Wege, welche in neuerer Zeit durch die im großen Maßstabe bereits bewerkstelligte Gewinnung des Kalkstickstoffes zu bedeutsamen Erfolgen geführt hat. Zur Orientierung über diese Fragen dienen die Veröffentlichungen von Frank (74, 75), von Lepel (76), Gerlach (77, 78), Wagner (79), Gerlach und Wagner (80), Tacke (81, 82), Herzfeld (83), Zielstorf (84), Edler (85), Löhnis (86), Rössler (87) und anderen.

## II. Stickstoffsammlung durch Leguminosen.

Die Stickstoffsammlung durch Leguminosen, die Bereicherung der Kulturböden mit dem teuren und wichtigen Stickstoff durch den Anbau solcher Pflanzen ist volkswirtschaftlich von größter Bedeutung. Nach einer von Remy (88) aufgestellten Berechnung sind in Deutschland 5 Millionen Hektar mit Leguminosen bestanden. Wenn nun eine mittlere Hülsenfruchternte pro Hektar 100 kg Stickstoff enthält und man annimmt, daß nur die Hälfte dieses Stickstoffes mit Hilfe der Knöllchenbakterien aus der Luft entnommen ist, so würde durch diesen Leguminosenanbau ein Gewinn von jährlich 2,5 Millionen Doppelzentner Stickstoff erzielt, die einen Wert von 300 Millionen Mark repräsentieren. Würde man nun die Leguminosen dazu bringen können, nur 10 kg Stickstoff pro Jahr und Hektar mehr zu sammeln, so ergäbe sich ein jährlicher Mehrgewinn von 50 Millionen kg Stickstoff im Werte von 60 Millionen Mark, ein Betrag, der nahezu der ganzen im Deutschen Reiche zu Düngezwecken verwendeten Chilesalpetermenge entspricht. .

Eine wesentliche Förderung sowohl in rein wissenschaftlicher, wie auch in praktischer Hinsicht hat unser Wissen über die hier in Betracht



kommenden Vorgänge durch die unermüdliche Tätigkeit Hiltners erfahren, der zunächst in Gemeinschaft mit Nobbe, später als Vorstand der biologischen Abteilung des kaiserlichen Gesundheitsamtes, sowie auch nach Uebernahme der Leitung des agrikulturbotanischen Instituts in München sich mit großem Erfolg der Bearbeitung dieses Gebietes widmete. Die von Nobbe und Hiltner ausgeführten zahlreichen Untersuchungen über die Biologie der Knöllchenbakterien und deren Bedeutung für die Stickstoffsammlung durch Leguminosen sind im wesentlichen von Jacobitz (Sammelreferat. a. a. O.) bereits erwähnt worden.

Ueber die Keimungsverhältnisse der Leguminosensamen und ihre Beeinflussung durch Organismenwirkung liegen sehr umfangreiche Studien Hiltners (89) vor, die ich etwas eingehender besprechen möchte, da sie für das später von Hiltner angegebene verbesserte Impfverfahren mit Reinkulturen von Knöllchenbakterien von grundlegender Bedeutung sind. Er konnte den Nachweis erbringen, daß eine hohe Keimfähigkeit der Samen nicht immer auch einer großen „Lebenskraft“ derselben entspricht, und daß umgekehrt eine sehr lebenskräftige und gesunde Saat nur eine geringe Keimfähigkeit besitzen kann. Hiltner betont, daß frische, gesunde Samen stets völlig frei von Pilzen und Bakterien sind, und daß das Vorkommen von Mikroorganismen im Innern der Samen stets eine pathologische Erscheinung sei. Auf der Oberfläche der Samen siedeln sich im Laufe der Zeit natürlich die verschiedensten Organismen an, und es kann unter Umständen auch zu einer Infektion der Samen durch Bakterien kommen. Hiltner hat nun die Verhältnisse, unter denen Leguminosensamen von Organismen befallen werden, näher erforscht und sich dabei teils der direkten mikroskopischen Untersuchung bedient, teils auch die in Betracht kommenden, aus dem Innern im Keimbett verschimmelnder oder verfaulender Samen stammenden Pilze und Bakterien in Reinkultur gewonnen und mit den erhaltenen Kulturen Infektionsversuche an gesunden Samen vorgenommen. Es ergaben sich so mehrere Gruppen von Organismen und zwar 1) solche, welche nur dem Samen gefährlich werden, aber nicht im stande sind, auch auf die Keimlinge oder die heranwachsende Pflanze überzugehen. In diese Gruppe gehören die meisten Bakterienarten, welche die Samen angreifen und die gewöhnlichen Schimmelpilze. 2) Organismen, die sowohl dem Samenkorn als der Keimpflanze gefährlich werden. Hierher gehören verschiedene Pilze (*Cephalothecium roseum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus nigricans*, *Pythium de Baryanum*). 3) Pilzarten, welche die Samenkörner befallen und von diesen aus auch auf die bereits kräftig herangewachsene Pflanze übergehen können. (*Ascochyta Pisi* Lib., der nicht selten die Ursache des vollständigen Versagens der Erbsen bildet, der in Amerika und Kanada gefürchtete, aber auch bei uns vorkommende Bohnenschädling *Colletotrichum* und ähnliche.) Von großem Interesse sind die Ausführungen Hiltners über das Verhalten gesunder und infizierter oder geschwächter Leguminosensamen bei der Keimprüfung und die Lehren, welche für die Methodik der Samenkontrolle aus diesen Betrachtungen gezogen werden können. Die Bestimmungen des Verbandes der landwirtschaftlichen Versuchsstationen, nach welchen die Prüfung der Keimfähigkeit zu erfolgen hat, enthalten keine bindenden Forderungen darüber, ob die Samen in Wasser vorgequellt werden sollen oder nicht, und ob die Keimung auf Filtrierpapier, in Sand oder in Tonapparaten vorgenommen werden soll. Diese ver-

chiedenartigen Bedingungen können aber die Keimfähigkeit der Leguminosensamen sehr wesentlich beeinflussen. Die Hiltnerschen Versuche ergaben, daß durch das Vorquellen die Entwicklung bestimmter, zum Verfaulen der Samen führender Bakterien außerordentlich begünstigt wird, und daß dieselben eine große Anzahl von Samen vernichten, welche ohne Vorquellung zu normaler Keimung gelangt wären. Bei gesunden Samen war die Art des Keimbettes von geringerer Bedeutung, obwohl die Keimungsenergie auch hier weitgehend von dem angewandten Verfahren beeinflußt wurde. Das schließliche Ergebnis war aber in solchen Fällen doch ziemlich das gleiche. Sind die Samen dagegen von Pilzen oder Bakterien befallen, dann können ganz bedeutende Unterschiede eintreten, je nachdem Vorquellen erfolgt ist oder nicht, oder je nachdem die Keimung in Sand oder Filtrierpapier ausgeführt wurde. Eingehende und sehr beachtenswerte Mitteilungen macht Hiltner auch über die Hartschaligkeit der Leguminosensamen, über die Ursachen, die Bedeutung und die künstliche Beseitigung derselben.

Bei den mit Boden des Versuchsfeldes Dahlem ausgeführten Versuchen ergab sich, daß ein mehr oder minder großer Teil der verschiedenartigsten Leguminosensamen in demselben durch Organismenbefall zu Grunde geht, daß jedoch die vor der Aussaat vorgekeimten Samen der schädigenden Wirkung der Bodenorganismen fast vollständig entgangen waren. Alle Versuche sprachen andererseits dafür, daß durch das Vorquellen in Wasser die Widerstandsfähigkeit der Samen gegen Organismenbefall ganz bedeutend herabgedrückt worden war. Das beigebrachte umfangreiche Material beweist klar und deutlich, daß Leguminosensamen auch von guter Keimfähigkeit im Boden durch Organismeninfektion zum Teil vernichtet werden können, daß sie aber eine gewisse Prädisposition zum Befall besitzen müssen. Die schädliche Wirkung der Bodenorganismen tritt in erhöhtem Maße gegenüber solchen Samen zu Tage, welche durch Drusch, Tierfraß oder auf andere Weise äußerlich verletzt sind. Für solche Samen kann nur durch Aussaat in Erde von jenen Feldern, auf welchen sie zum Anbau kommen sollen, ein wirklich zutreffender Anhalt über die Keimfähigkeit erhalten werden. Bezüglich der zur Beseitigung von Hartschaligkeit gebeizten oder geritzten Samen ergaben die Hiltnerschen Versuche: „daß mit Schwefelsäure gebeizte oder mit Sandpapier abgeriebene Samen in Böden, in denen samenzerstörende Organismen zur Geltung kommen können, unter Umständen sogar schlechter auflaufen, als unbehandelt gebliebene. Nur wenn die Zahl hartschaliger Samen sehr groß ist, ergibt sich durch eine derartige Behandlung ein Vorteil. Dieser schädlichen Wirkung der Bodenorganismen läßt sich aber begegnen durch Vorkeimung der gebeizten Samen.“

Mit zunehmender Saattiefe verminderte sich die Zahl der auflaufenden Pflanzen. Dabei zeigte sich wieder die große Ueberlegenheit der vorgekeimten Samen vor den unbehandelten oder den vorgequellten. Diese haben schon bei 5 cm Saattiefe vollständig versagt, während von den vorgekeimten selbst bei 8 cm Tiefe noch 14 Proz. Keimpflanzen zur Entwicklung kamen. Aus der großen Zahl der hierher gehörigen Beobachtungen zieht Hiltner den Schluß, daß die Lebenskraft der Leguminosensamen bereits eine erhebliche Schwächung erlitten haben kann, ohne daß die Keimfähigkeit im geringsten dadurch beeinflußt wurde. „Das Auflaufen von Samen in Böden, die ihnen gefährliche Organismen enthalten, steht daher sehr oft in keinem Verhältnis mehr zu

ihrer Keimfähigkeit. Die Bestimmung der Prozentzahl der in einem Boden der gekennzeichneten Art auflaufenden Pflanzen erweist sich somit als ein weit feinerer Wertmesser zur Beurteilung der Samen, als die Ermittlung der Keimfähigkeit.“

Die Zahl und Wirksamkeit der zu einer Fäulnis der Leguminosensamen Veranlassung gebenden Pektinvergärer wird durch den Pflanzenbestand und die Düngung des Bodens nicht unwesentlich beeinflusst. In Böden, welche öfter Leguminosen getragen haben, vermehren sie sich besonders üppig und können dort zu der bekannten Erscheinung der Leguminosenmüdigkeit Veranlassung geben.

Diese im wesentlichen mit Dahlemer Erde ausgeführten Untersuchungen sind einer gewissen Verallgemeinerung sehr wohl fähig, denn Böden, welche sich ähnlich verhalten, sind keineswegs selten. Durch Prüfung verschiedenartiger Erden konnte jedenfalls mit Sicherheit festgestellt werden, daß sich dieselben recht verschieden gegenüber den Leguminosensamen verhalten. Hiltner weist am Schlusse seiner Abhandlung nochmals eingehend und in zusammenfassender Form auf die Konsequenzen hin, welche sich aus deren Resultaten für die Samenkontrolle und die einschlägigen Gebiete der Pflanzenpathologie ergeben.

Hiltner hat bei seinen Vorschlägen zur Erhöhung der Impfwirkung des Nitragsins schon in den Jahren 1899 und 1900 verschiedentlich auf die große Bedeutung der Wirksamkeits-(Virulenz-)Verhältnisse der Knöllchenbakterien für den Erfolg der Impfung hingewiesen, besonders eindringlich in seiner Publikation: „Ueber die Ursachen, welche die Größe, Zahl, Stellung und Wirkung der Wurzelknöllchen der Leguminosen bedingen“<sup>1)</sup>. In einer Reihe weiterer Arbeiten bringt er ein umfangreiches Material zu dieser wichtigen Frage bei. Bei Versuchen, die bereits im Herbst 1899 begonnen waren (30), wurde die Erfahrung gemacht, daß Erbsenbakterien, welchen Gelegenheit geboten war, mehrmals nacheinander in den Wurzeln jugendlicher Erbsenpflanzen zu leben, von weit größerer Impfwirkung als die für gewöhnlich im Boden enthaltenen Erbsenbakterien waren. Diese Ueberlegenheit trat auch in nicht sterilisierter Erde hervor, ist also nur mit einer Erhöhung der Wirksamkeit zu erklären. Daß die Form und Größe der Knöllchen von Einfluß auf deren Wirksamkeit ist, folgt auch aus Untersuchungen von Dehérais und Demoussy (90), welche fanden, daß Lupinenpflanzen, deren Wurzeln mit kleinen Knöllchen besetzt waren, einen wesentlich höheren Stickstoffgehalt aufwiesen als solche mit sehr großen, erdbeerförmigen Wurzelknöllchen. Sie nehmen an, daß die in Wurzeln der letzteren Art enthaltenen Bakterien ein reines Parasitenleben führen, die Wirtspflanze daher keinen Nutzen aus ihnen ziehen kann.

Die bei den oben geschilderten Untersuchungen über die Keimungsverhältnisse der Leguminosensamen gewonnenen Erfahrungen hat Hiltner zur Verbesserung des Impfverfahrens mit Reinkulturen verwendet und mit seinem Mitarbeiter Störmer bald darauf eingehend über die erzielten Erfolge berichtet (91). In dieser umfangreichen Veröffentlichung geben die Verfasser zunächst eine Uebersicht über eine größere Anzahl von verschiedenen Seiten mit dem alten Handelspräparat Nitragin ausgeführter Feldversuche, welche vielfach zweifellose Erfolge gebracht hatten und für die Berechtigung einer Impfung mit reinkultivierten Knöllchenbakterien sprechen, wenn es auch andererseits feststand, daß

1) Von Jacobitz (a. a. O.) bereits besprochen.

sowohl Impfverfahren wie auch Impfmateriel verbesserungsbedürftig waren. Schon im Jahre 1901 konnten teils von den Verfassern selbst, teils von praktischen Landwirten Versuche mit verbessertem Impfmateriel ausgeführt werden, das Impfverfahren selbst entsprach allerdings noch nicht den Bedingungen, die später als durchaus beachtenswert und für den Erfolg maßgebend erkannt wurden. „Unter den für die Beurteilung der Impfwirkung in Betracht kommenden 46 Einzelversuchen haben 25, d. i. 54 Proz., positive, und zwar zum Teil außerordentlich günstige Resultate geliefert. In Anbetracht des Umstandes, daß die ungewöhnliche Trockenheit des Sommers 1901 für die Versuche recht nachteilig war, daß ferner fast nicht in einem einzigen Falle die nach jetziger Erkenntnis wirksamste Impfmethode zur Anwendung kam, darf man dieses Ergebnis als ein recht beachtenswertes ansehen.“ Nicht nur auf Hochmoor und Neuland, sondern auch auf normalen Ackerböden, welche stets Knöllchenbakterien bereits enthalten, wurden durch die Impfung in zahlreichen Fällen noch Ertragssteigerungen bewirkt. Diese Versuche wurden ergänzt durch Feldversuche, welche Hiltner und Störmer selbst auf dem Versuchsfelde bei Dahlem anstellten. Hier wurde, soweit es sich um eine Erprobung des Impfverfahrens handelte, ausschließlich Soja hispida als Versuchspflanze verwendet, weil diese ohne Impfung stets knöllchenfrei blieb, sich also zur Erkennung von Impfwirkungen hervorragend gut eignet. Diese Versuche lieferten eine Fülle wichtiger Erfahrungen über die bei der Leguminosenimpfung einzuhaltenden Bedingungen.

Vor allem wiesen eine Reihe von Erscheinungen darauf hin, daß während des Aufquellens der Samen in Wasser Stoffe ausgeschieden werden, welche schädigend auf die Knöllchenbakterien wirken, und daß die bereits aufgequollenen Samen eine solche schädliche Wirkung nicht mehr oder nur noch in geringem Maße ausüben. „Die schädigende Wirkung vermindert sich in dem Maße, als die Keimung fortschreitet.“ Aus alledem schließen die Verfasser, daß die Impfung mit Reinkulturen derjenigen mit Impferde ebenbürtig, meist sogar überlegen ist, daß das Verfahren der Erdimpfung nur in wenigen Ausnahmefällen zu Erfolgen führt, und daß daher die Samenimpfung unter allen Umständen vorzuziehen sei. Aber auch diese führt zu Mißerfolgen, wenn die Samen sofort nach der Impfung ausgesät werden, weil die Samenschalen beim Aufquellen Stoffe ausscheiden, die die Infektionsfähigkeit der Knöllchenbakterien vermindern oder ganz aufheben. Daher soll man die Samen erst dann infizieren, wenn sie schon aufgequollen sind. Die Sicherheit steigt in dem Maße, als sich die Samen zur Zeit der Impfung bereits dem Keimungsstadium genähert haben. Die Vorquellung der Samen darf aber unter keinen Umständen unter Wasser erfolgen.

Um Aufschluß über die eigenartige Einwirkung der Samenausscheidungsstoffe auf Knöllchenbakterien zu erhalten, wurden diese in Quellwasser von Samen gezogen, welchem zum Teil verschiedene Nährstoffe zugesetzt waren. Es ergab sich, daß die Ausscheidungsstoffe eine rasche Umbildung der Bakterien in Bakteroiden bewirken. Die ersten in das Quellwasser übertretenden Produkte können jedoch die Bakterien zu einem körnigen Zerfall bringen und vernichten. Durch den Hinzutritt anderer, mehr aus dem Inneren der Samen stammender Stoffe wird dann der schädliche Einfluß dieser Quellschubstanzen wieder aufgehoben. Im weiteren Verlauf dieser Untersuchungen wurden eine

Reihe anderer Körper, vor allem solcher, welche eventuell in den Knöllchen eine Rolle zu spielen berufen sind, auf ihre Fähigkeit geprüft, zur Bakteroidenbildung Veranlassung zu geben. Dabei kamen in Betracht Traubenzucker und andere Kohlenhydrate, organische Säuren, stickstoffhaltige Nährstoffe (Salpeter, Asparagin, Pepton) und mineralische Salze der verschiedensten Art. Das Ergebnis dieser Studien gebe ich am besten mit den Worten der Verfasser wieder:

1) In 1-proz. Traubenzuckerlösung werden die Knöllchenbakterien rasch zur Bildung von Bakteroiden veranlaßt, die sich durch ihre Größe und die Differenzierung ihres plasmatischen Inhalts von den normalen Kurzstäbchen, als welche sich die Knöllchenbakterien in unveränderter Form präsentieren, scharf unterscheiden.

2) Die Differenzierung des Plasmas besteht darin, daß sich der Inhalt der Bakteroiden sonder in ein mit Karbolfuchsin stark tingierbares und mit Jodtinktur eine rotbraune Farbe annehmendes, lichtbrechendes Plasma und einen durch Karbolfuchsin nur schwach oder gar nicht färbbaren, durch Jodtinktur rein gelb werdenden Bestandteil.

3) Das durch Jodtinktur meist rotbraun sich färbende Plasma hat bei den Knöllchenbakterien gewisser Leguminosenarten bei der Kultur in Traubenzuckerlösungen die Neigung, aus den Bakteroiden auszusplassen. Bei anderen kommen derartige Aussprossungen ebenfalls, aber nicht so regelmäßig vor; das betreffende Plasma verbleibt vielmehr meist innerhalb der Bakteroiden, indem es sich an bestimmten Stellen derselben lokalisiert oder fast das ganze Bakteroid ausfüllt.

4) Die verschiedenen Knöllchenbakterien lassen sich nach ihrem Verhalten in Traubenzuckerlösung zunächst in zwei ziemlich scharf voneinander getrennte Gruppen bringen. Die eine dieser Gruppen, zu der die Soja-, Lupinen- und Serradellabakterien gehören, zeichnet sich dadurch aus, daß die Bakterien, während sie sich in Traubenzuckerlösung zu Bakteroiden umwandeln, stets ihre stäbchenförmige Gestalt beibehalten, also nie erheblich in die Breite wachsen, und daß sie ferner die Aussprossung meist nur an einem Ende bilden. Die Bakterien der zweiten Gruppe, zu der alle übrigen geprüften Arten gehören, wachsen in Traubenzuckerlösung auch meist in die Breite, wodurch sie zum Teil kugel- oder birnförmige Gestalt annehmen können. Das ganze Bakteroid kann sich bei diesen Arten mit dem stark tingierbaren Plasma anfüllen.

5) Die Umwandlung in Bakteroiden, die Differenzierung des Plasmas und der Beginn der Aussprossungen erfolgen bei den verschiedenen Knöllchenbakterien sehr ungleich schnell.

Durch eine große Anzahl weiterer Kulturversuche in künstlichen Nährlösungen unter Zugabe der verschiedenartigsten Nährstoffe wurden diese Beobachtungen bestätigt und erweitert. Hiltner und Störmer erreichten auf verschiedenen Gelatine- und Agarnährböden durch entsprechende Zusätze ein durchaus befriedigendes Wachstum der einzelnen Arten. Flüssige, Bakteroiden enthaltende Nährlösungen zeigten bezüglich der Impfwirkung keine Vorzüge vor den festen Kulturen. Auch Stutzer (92) gelangte bei Anwendung wässriger Extrakte von gemahlenen Leguminosensamen als Nährmedium zu reichlicher Bakteroidenbildung. Dabei erwies sich die Konzentration des Samenextraktes von großem Einfluß. Am besten verlief die Bakteroidenbildung in 1-proz. Lösungen, weniger gut in verdünnten. Durch Zusatz von Agar zu den infolge Zugabe verschiedener Mineralsalze und

Kohlenhydrate in ihrer Zusammensetzung variierenden Samendekokten wurden für Züchtung von Knöllchenbakterien gut geeignete feste Nährböden erhalten. Neumann (93) führte Ueberimpfungen des Knöllcheninhalts von *Vicia faba* in eine große Anzahl flüssiger Nährsubstrate aus und konnte nur in ganz bestimmten, nicht sehr häufigen Fällen das Auftreten verzweigter, den natürlichen Bakteroiden ähnlicher Formen konstatieren. Es waren das vor allem Lösungen, welche Zusätze von Urin, Pflanzen- und Wurzelextrakten, Erdauszug u. s. w. erhalten hatten. Durch Zugabe von Salpeter wurde das Auftreten verzweigter Formen nicht begünstigt, auch auf festen Nährsubstraten ließen sich solche nicht erhalten. Dieser Befund wird durch Versuche Süchtings (94) bestätigt, welchem es bei umfangreichen Untersuchungen niemals gelungen ist, auf festen Nährböden verzweigte Formen zu erhalten, dagegen unter bestimmten Bedingungen stets in Nährlösungen. Er schließt hieraus, daß die chemische Beschaffenheit der Nährstoffe ohne Einfluß auf die Bakteroidenbildung ist. Man müsse vielmehr annehmen, daß entweder der geringere Sauerstoffdruck, welcher in den Lösungen im Verhältnis zu den festen Substraten vorhanden ist, die Bakteroidenbildung begünstigt, oder daß die in Flüssigkeiten eintretende raschere und stärkere Verdünnung der Stoffwechselprodukte das Zustandekommen von Bakteroiden ermöglicht. Aus der Stärke des Wachstums allein kann nicht auf die Brauchbarkeit eines Nährbodens geschlossen werden. Süchting machte die Erfahrung, daß die Wirksamkeit der Knöllchenbakterien bei der Züchtung derselben auf künstlichen Nährböden eine starke Beeinflussung erfahren kann. Lupinenbakterien büßten auf bestimmten Substraten ihre Wirksamkeit vollständig ein, auch Pferdebohnenbakterien litten bei der Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden, wenn auch nicht in dem Maße wie die Lupinenbakterien. Einige Versuchsergebnisse sprechen allerdings auch für die Richtigkeit des von Hiltner vertretenen Standpunktes, daß durch Züchtung auf geeigneten Nährböden eine Virulenzsteigerung eintreten kann, und daß so erhaltene Kulturen die direkt übertragenen Bakterien (Knöllcheninhalt) an Wirksamkeit übertreffen. Für die Kultivierung wirksamer Bakterien erwies sich die Anwesenheit von Kohlenhydraten und Pflanzenextrakten als unbedingt erforderlich.

Einige Beobachtungen über die Weiterentwicklung der *Serratella*-bakterien im Boden und die fortschreitende Anpassung derselben an die Wirtspflanze teilt Steglich (95) mit.

Auf einer großen Anzahl künstlicher Nährsubstrate verschiedener Zusammensetzung hat Smith (96) gutes Wachstum der Knöllchenbakterien und Bakteroidenbildung erhalten. Buhlert (97) machte die interessante Beobachtung, daß sich Knöllchenbakterien bei längerer Kultur auf künstlichen Nährböden in weitreichendem Maße an dieselben gewöhnen, so daß sie schließlich selbst in gewöhnlicher Bouillon gut gedeihen, obwohl sie direkt nach der Isolierung aus Wurzelknöllchen auf diesem Nährboden nicht zum Wachstum zu bringen sind. Besonders leicht gewöhnten sich die *Vicia faba*-Bakterien an die Nährbouillon. Mit der Zeit gelang es aber auch, *Pisum*- und *Phaseolus*-Bakterien in derselben zum Gedeihen zu bringen, während sich die Bakterien von *Acacia speciosa* anscheinend nur sehr schwer an dieses Nährmedium anpaßten.

Die bei den erwähnten Untersuchungen von Hiltner und Störmer (91) hervorgetretene Differenzierung des Plasmas der in kohlenstoffreichen, aber an löslichem Stickstoff freien Nährsubstraten

gebildeten Bakteroiden und die im Zusammenhange damit auftretenden Aussprossungen wurden zum Gegenstand eingehender Studien gemacht. Es zeigte sich, daß nach dem Austritt des durch Anilinfarben stark tingierbaren Plasmas sich die Färbbarkeit des Bakteroideninhalts vermindert und schließlich fast ganz verloren geht. Trotzdem bleibt nicht etwa eine inhaltsleere Membran zurück, sondern es tritt nur eine Differenzierung des Plasmas in ein aussprossendes Kernplasma und ein zurückbleibendes Ernährungsplasma ein. Auch Paratore (98) sah beim Auftreten der verzweigten Formen das Plasma zu kleinen Kügelchen sich umgestalten. Die von Prazmowski, Frank und Möller bereits beachtete, durch Jod sich rotbraun färbende Substanz in den künstlich gezüchteten, aber auch in den in natürlichen Knöllchen sich bildenden Bakteroiden wurde durch Hiltner und Störmer eingehend studiert. Sie ist nicht identisch mit jener wachsartigen Substanz, bei deren Bildung der für gewöhnlich zerfließliche Inhalt der Knöllchen fest und kreidig, und wie die weiteren Untersuchungen zeigten, fast ausnahmslos durch Befall mit einem bestimmten Pilz pathologisch verändert wird. Das Auftreten der wachsartigen Substanz ist demnach ein Zeichen dafür, daß eine Erkrankung der Knöllchen eingetreten ist, und daß sich in ihnen der Stoffwechsel in anormaler Weise vollzieht. Mit dieser Feststellung ist ein Fortschritt in der Erkenntnis der zu „Bodenmüdigkeit“ führenden Ursachen zu verzeichnen. Wie erwähnt, ist aber der mit Jod rotbraun werdende Stoff mit dieser wachsartigen Substanz nicht identisch. Der wachsartige Körper erwies sich als stickstofffrei, während der mit Jod rotbraun werdende gerade das erste Assimilationsprodukt des Stickstoffes darzustellen scheint. Bei zahlreichen Vegetationsversuchen zeigte es sich, daß die Stickstoffsammlung erst durch die in den Bakteroiden vor sich gehende Plasmadifferenzierung ermöglicht wird, indem sich dabei aus dem Kernplasma oder unter dessen Mitwirkung eine stickstoffhaltige Substanz bildet, deren Stickstoff der Atmosphäre entstammt. In Lösungen, welche gebundenen Stickstoff enthalten, erfolgt häufig vorzügliche Bakteroidenbildung, es unterbleibt jedoch die Plasmadifferenzierung, und diese zur Stickstoffsammlung nicht befähigten Bakteroiden färben sich mit Jod nicht rotbraun, sondern gelb. So erklärt sich auch die praktisch wichtige Tatsache, daß die Stickstoffsammlung in den Wurzelknöllchen erst dann beginnt, wenn der Vorrat des Bodens an löslichem Stickstoff erschöpft ist.

Die von Brunchorst und Moeller zuerst behauptete, von Hiltner (Forstl. landw. Zeitschr. Bd. VII. 1898. p. 422) bestätigte und von Hartleb (Vortrag, Naturforschervers. Aachen 1900) übernommene Ansicht, daß die Bakteroiden als Sporangien aufzufassen seien, wird von Hiltner und Störmer aufrecht erhalten, wenngleich die Sporangienatur bei den Leguminosenknöllchen niemals so deutlich hervortrat, wie bei gewissen Entwicklungsstadien der Erreger der Erlenknöllchen. Süchting (94) weist jedoch darauf hin, daß ein zwingender Beweis für die Sporangienatur der Bakteroiden nicht erbracht sei, und hält es für möglich, daß Hiltner bei seinen Plasmadifferenzierungen entweder Kunstprodukte oder die Babes-Ernstschen Körperchen vor sich hatte. Heinze (28) hält die durch Jod sich braun färbende Substanz für Glykogen. Er beobachtete, daß dieselbe sich reichlich in den runden, kolbenförmigen oder sporangienartigen Bakteroiden vorfindet, in geringerem Maße in den Y-artigen Verzweigungen. An dieser Stelle sei erwähnt, daß Heinze einen nahen Zusammenhang



zwischen den Azotobacter- und Leguminosenorganismen vermutet und sogar Knöllchenbildung durch Azotobacter allein, oder unter Mitwirkung anderer Organismen für möglich hält. Er will allerdings diese, vornehmlich auf morphologische Aehnlichkeiten begründete Auffassung als eine bloße Hypothese angesehen wissen, die er durch weitere Untersuchungen zu stützen gedenkt. In Uebereinstimmung mit Hiltner hebt Heinze die Sporangiennatur der Bakteroiden hervor, welche besonders bei den Erlenknöllchen mit großer Deutlichkeit zu Tage tritt. In solchen sporangienartigen Bakteroiden war reichliche Glykogenbildung zu beobachten.

Zu interessanten Befunden über die Virulenzverhältnisse der Knöllchenbakterien gelangte Hiltner (91), als er geimpfte und ungeimpfte Leguminosensamen auf Waldboden und auf Hochmoor anbaute. Hier trat deutlich eine Ueberlegenheit der zur Impfung verwendeten Bakterien gegenüber den bereits im Boden vorhanden gewesenen hervor.

Bei öfterer Passage der Knöllchenbakterien durch die Pflanzen zeigte sich mit voller Deutlichkeit, daß die Knöllchen der späteren Generationen viel größer werden und die Neigung aufweisen, sich ausschließlich im oberen Teil der Hauptwurzel zu bilden, die Nebenwurzeln dagegen ganz frei zu lassen. Aus solchen Knöllchen entnommene und reinkultivierte Bakterien zeigten in der Tat eine weit bessere Wirksamkeit als nicht derartig behandelte Bakterien der gleichen Art. Daß die Steigerung der Wirksamkeit auch zu weit getrieben werden kann, so daß die Impfbakterien dann einen direkt schädigenden Einfluß auf das Wachstum ihrer Wirtspflanze ausüben können, ist ebenfalls von Hiltner und Störmer (91) gezeigt und erklärt worden. Da man annehmen muß, daß sich die Knöllchenbakterien zunächst der höheren Pflanze gegenüber wie reine Parasiten verhalten, so wird es erklärlich, daß sie ein gewisses Maß von Energie nicht überschreiten dürfen, wenn sie ihren Wirten nicht gefährlich werden sollen. Die Bakterien müssen virulent genug sein, um eine starke Infektion der Wurzeln zu bewirken, sie dürfen aber andererseits innerhalb der von ihnen gebildeten Knöllchen kein einseitiges Uebergewicht erlangen.

Stutzer (92) glaubt, daß die in künstlichen Nährböden zur Bildung verzweigter Formen gebrachten Knöllchenbakterien eine Steigerung der Wirksamkeit gegenüber den in Stäbchenform heranwachsenden aufweisen und teilt einige, diese Annahme stützende Versuchsergebnisse mit.

Remy (99) suchte durch Vegetationsversuche Aufschluß darüber zu erlangen, ob das Alter der Knöllchen, die Versorgung der Leguminosen mit aufnehmbarem Bodenstickstoff und der Ausschluß der künstlichen Nährböden, also die direkte Uebertragung des Knöllcheninhaltes, von Einfluß auf die Wirksamkeit der Knöllchenbakterien seien. Bezüglich des ersten Punktes konnten eindeutige Ergebnisse nicht erzielt werden, dagegen erwiesen sich die aus den Knöllchen mit Stickstoff gedüngter Leguminosen stammenden Bakterien den anderen entschieden überlegen. Die Wirksamkeit der in die Pflanzen eingedrungenen Bakterien nahm also bei steigender Versorgung der Hülsenfrucht mit Stickstoff zu, wohl deshalb, weil derartig ernährte Pflanzen dem Eindringen der Bakterien größeren Widerstand entgegensetzen, als solche, die von Anfang an auf Luftstickstoff angewiesen sind. Bei direkter Uebertragung von Knöllcheninhalt mit Ausschaltung künstlicher Nährböden erzielte Remy günstigere Resultate, als bei Anwendung von



Reinkulturen und von Impferde. Er kommt daher im Gegensatz zu Hiltner zu der Annahme, daß die Knöllchenbakterien von dem Augenblicke ab, wo sie die lebende Pflanze verlassen, eine Abnahme ihrer Wirksamkeit erfahren. Die Richtigkeit dieser Beobachtungen wird von Hiltner (100) bestritten. Er betont, daß dieser Befund Remys nicht verallgemeinert werden kann, da die von Remy verwendeten Reinkulturen anscheinend nicht genügend wirksam waren, und weil bei den Versuchen mit Lupinen vielleicht nicht im erforderlichen Maße Rücksicht darauf genommen wurde, daß die Bakterien der gelben und blauen Lupine sich wohl gegenseitig vertreten können, aber doch nicht in dem Maße wie manche anderen, z. B. die der Erbse und Wicke. Eine Impferde, welche bei blauen Lupinen vorzügliche Impferfolge liefert, braucht dies keineswegs auch bei gelben tun. An anderer Stelle führte Remy (88) aus, daß die Wirtspflanzen nur dann Vorteile von ihren Knöllchenbakterien haben, wenn ein gewisser Gleichgewichtszustand in der Vegetationsenergie der beiden Organismen vorliegt. Von größter Bedeutung für den Eintritt dieses Gleichgewichtszustandes sind eben die „Virulenzverhältnisse“ der Knöllchenbakterien. Von solchen Knöllchenbakterien, welche rasch und leicht in die Wurzeln lebenskräftiger Hülsenfrüchte einzudringen vermögen, wird man eine besonders gute Wirksamkeit erwarten dürfen. Die hier in Betracht kommenden Verhältnisse werden von Hiltner (101) auch bei anderer Gelegenheit nochmals ausführlich besprochen. Er betont, daß eine Resorption der Bakteroiden nur dann erfolgen kann, wenn die Wirtspflanze den Knöllchenbakterien wesentlich an Vegetationsenergie überlegen ist. In diesen Fällen erweisen sich die Knöllchen nicht als stickstoffsammelnd. In normalen, stickstoffsammelnden Knöllchen schützen sich dagegen die Bakteroiden vor einer Resorption dadurch, daß sie das ihnen von der Pflanze durch deren Enzyme entzogene Eiweiß durch Stickstoffaufnahme aus der Luft wieder ersetzen. Auch die Knöllchen der Erlen sammeln unter den zuletzt genannten Bedingungen Stickstoff, und die Erlenknöllchen kommen nur dann zur Resorption, wenn die höhere Pflanze infolge günstiger Ernährung den Knöllchenenergie wesentlich überlegen ist. Nur in diesem Falle werden die in den Erlenknöllchen auftretenden, sporangienähnlichen, bläschenartigen Gebilde von der Wirtspflanze resorbiert. Wenn dieser Vorgang das Wesentliche bei der Stickstoffassimilation wäre, dann wäre es kaum zu erklären, daß die Anreicherung an Stickstoff so bedeutend sein könnte, wie sie in der Tat häufig ist.

Neuerdings hat sich Süchting (94) eingehend mit den Virulenzverhältnissen der Knöllchenbakterien beschäftigt. Er wendet sich gegen die Hiltnersche Immunitätstheorie, nach welcher tätige Knöllchen der Pflanze Immunität verleihen gegen Bakterien von gleichem oder niedrigerem Wirkungsgrade, als ihn die in den Knöllchen bereits enthaltenen Bakterien besitzen, so daß also nur noch Bakterien von höherer Virulenz in die Wurzeln einzudringen vermögen. Er will vielmehr an eine Regelung der Erscheinungen der Virulenz durch den Gleichgewichtszustand zwischen Antikörpern der Pflanze und Infektionsstoffen der Bakterien glauben. Die Pflanze selbst ist nach Süchtings Ansicht in der Lage, sich bis zu einem gewissen Grade gegen das Eindringen der Knöllchenbakterien zu schützen und bedarf hierzu nicht der Immunsierung durch Bakterien. Zur Stütze dieser Auffassung führte Süchting eine Reihe von Vegetationsversuchen aus unter Anwendung von Reinkulturen, Emulsionen zerquetschter Knöllchen und von Impferde. Dabei

hat sich die Hiltner'sche Ansicht, daß die Virulenz auch auf die Stellung der Knöllchen am Wurzelsystem einen gewissen Einfluß ausübe, nicht bestätigt. Versuche mit Bakterien aus Knöllchen der Haupt- und Nebenwurzeln ergaben vielmehr, daß die Wirksamkeit der Bakterien nicht dem Alter der Knöllchen umgekehrt proportional ist, sondern daß auch hier das Gleichgewichtsgesetz gilt, nach welchem die Neubildung von Knöllchen an den Nebenwurzeln erfolgen kann, wenn das Gleichgewicht zwischen Pflanze und Bakterien, d. h. zwischen Antikörpern der Pflanze und Infektionsstoffen der Bakterien gestört wird. Daß durch mehrfache Pflanzenpassage die Wirksamkeit der Knöllchenbakterien erhöht werden kann, wird durch mehrere Versuche Süchtings bestätigt, bei welchen Reinkulturen und Knöllcheninfuse zweifellos besser gewirkt hatten als Impferde. Bei einer weiteren Anzahl von Versuchen sollte ermittelt werden, ob die während der Symbiose mit den höheren Pflanzen auftretende Steigerung der Wirksamkeit plötzlich nach dem Eindringen der Bakterien in die Wurzeln erfolgt, oder ob während der ganzen Dauer der Vegetation eine Einwirkung auf die Virulenz statt hat. Die Resultate sprechen zwar dafür, daß während der ganzen Vegetationsdauer eine Einwirkung vorzuliegen scheint, doch will Süchting in Anbetracht der zahlreichen möglichen Fehlerquellen auf Grund seines Materiales keine endgültige Entscheidung treffen. Ebenso führten Versuche über die Frage, ob Bakterien aus Pflanzen, die nicht mit Stickstoff ernährt wurden, und aus solchen, welche mit verschiedenen großen Mengen gebundenen Stickstoffes versorgt worden waren, sich in ihrer Wirksamkeit verschieden verhalten, zu keinem sicheren Ergebnis. Auch hier liegen die Differenzen in den Stickstofferten meistens innerhalb der Fehlergrenzen, wenn auch eine gewisse Ueberlegenheit der Bakterien aus mäßig mit Stickstoff ernährten Pflanzen vorzuliegen scheint.

(Schluß folgt.)

## Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

### Allgemeines.

Importation of insect pests into the United States. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 3. p. 163—164.)

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Forster, W. H. C.**, A simple technique for the enumeration of organisms in any fluid. (Lancet. 1905. Vol. I. N. 24. p. 1641—1642.)

**Hansen, F. C. C.**, Ueber Eisenhämatein, Chromalaunhämatein, Tonerdealaunhämatein, Hämateinlösungen und einige Cochenillefarblösungen. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII. 1905. Heft 1. p. 45—90.)

**Melissinos, Konst.**, Vorrichtung zur gleichzeitigen schnellen Färbung der auf Deckgläsern oder Objektträgern aufgeklebten Serienschnitte. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII. 1905. Heft 1. p. 130—133. 1 Fig.)

**Reitmann, Karl**, Zur Färbung der *Spirochaete pallida*. (Dtsche med. Wochenschr. Jg. XXXI. 1905. N. 25. p. 997.)

**Bůžicka, Vladislav**, Zur Theorie der vitalen Färbung. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII. 1905. Heft 1. p. 91—98.)

**Schaer, Ed.**, Ueber eine neue Form von Reagiergläsern zu chemischen und bakteriologischen Zwecken. (Ztschr. f. analyt. Chemie. Jg. XLIV. 1905. Heft 6/7. p. 396—397.)

- Schouten, S. L.**, Reinkulturen aus einer unter dem Mikroskop isolierten Zelle. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII. 1905. Heft 1. p. 10—45.)
- Wederhake**, Zur mikroskopischen Schnelldiagnose. (Centralbl. f. Gynäkol. Jg. XXIX. 1905. N. 25. p. 785—790.)

## Systematik, Morphologie und Biologie.

- Barker, B. T. P.**, The structure of the ascocarp in the genus *Monascus*. (Rep. 74. Meet. British Assoc. for the Advanc. of Sc. held at Cambridge 1904. London 1905. p. 824—825.)
- Buller, A. H. Reginald**, The reactions of the fruit-bodies of *Lentinus lepideus* Fr. to external stimuli. (Rep. 74. Meet. British Assoc. for the Advanc. of Sc. held at Cambridge 1904. London 1905. p. 824.)
- Crawley, Howard**, The Movements of Gregarines. (Proc. of the Acad. of Nat. Sc. of Philadelphia. Vol. LVII. P. 1. p. 89—101.)
- , *Coelosporidium blattellae*, a new sporozoan parasite of *Blattella germanica*. (Proc. of the Acad. of Nat. Sc. of Philadelphia. Vol. LVII. 1905. P. 1. p. 158—161.)
- v. Janicki, C.**, Beutlercestoden der Niederländischen Neu-Guinea-Expedition. Zugleich einiges Neue aus dem Geschlechtsleben der Cestoden. (Zool. Anz. Bd. XXIX. 1905. N. 4. p. 127—131.)
- Keysselitz**, Ueber flagellate Blutparasiten bei Süßwasserfischen. (Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde Berlin. 1904. p. 285—296.)
- Klebahn, H.**, Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen. 1. u. 2. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLI. 1905. Heft 4. p. 485—560. 75 Fig.)
- Laveran, A. et Nègre**, Sur un protozoaire parasite de *Hyalomma aegyptum*. (Compt. rend. Soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 21. p. 964—966. 6 Fig.)
- Löhnis, F.**, Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 18/20. p. 582—604.)
- Magnus, Paul**, Die Pilze (Fungi) von Tirol, Vorarlberg und Liechtenstein. Unter Beistand von K. W. dalla Torre und Ludwig Grafen von Sarnthein. Innsbruck 1905. 716 p. 8°.
- de Marval, L.**, Monographie des Acanthocéphales d'oiseaux. (Rev. Suisse de Zool. T. XIII. 1905. 387 p. 4 Taf.)
- Saito, K.**, *Rhizopus oligosporus*, ein neuer technischer Pilz Chinas. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1905. N. 18/20. p. 623—627. 1 Taf.)
- Schouteden, H.**, Notes sur quelques Amibes et Choanoflagellates. (Arch. f. Protistenk. Bd. V. 1905. Heft 3. p. 322—338.)
- Smith, B. Greig**, A yellow race of *Bacillus pseudarabius*, from the quince. (Proc. of the Linnean Soc. of New South Wales for the year 1904. Part 4. p. 860—862.)
- Stevenson, Earle C.**, The external parasites of hogs, being articles on the hog louse (*Haematopinus suis*) and mange, or scabies, of hogs. (U. S. Depart. of agric. Bureau of animal industry. Bull. N. 69. 1905. 44 p. 8°. Mit Fig.)
- The bean beetle (*Bruchus rufimanus*). (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 3. p. 162—163.)
- Thon, Karel**, Ueber den feineren Bau von *Didinium nasutum* O. F. M. (Arch. f. Protistenk. Bd. V. 1905. Heft 3. p. 281—321. 2 Taf. u. 3 Fig.)

## Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

- Arnould, V.**, La stérilisation et l'embouteillage. (Rev. viticult. Année XII. T. XXIII. 1905. N. 600. p. 671—673.)
- Bang, Sophus**, Ueber die Verteilung bakterientötender Strahlen im Spektrum des Kohlenbogenlichtes. (Mitt. a. Finsens med. Lysinst. in Kopenhagen. 1905. H. 9. p. 164—179. 4 Fig.)
- Bie, Valdemar**, Ist die baktericide Wirkung des Lichtes ein Oxydationsprozeß? (Mitt. a. Finsens med. Lysinstitut in Kopenhagen. 1905. Heft 9. p. 5—74.)
- , Ist die baktericide Wirkung des Lichtes auf eine direkte Einwirkung auf die Bakterien oder auf eine indirekte Einwirkung durch Entwicklung eines baktericiden Stoffes im Nährsubstrate zurückzuführen? (Mitt. a. Finsens med. Lysinstit. in Kopenhagen. 1905. Heft 9. p. 75—146. 1 Fig.)
- Dreyer, Georges und Jansen, Hans**, Ueber den Einfluß des Lichtes auf tierisches Gewebe. (Mitt. a. Finsens med. Lysinstitut in Kopenhagen. 1905. Heft 9. p. 180—192.)
- Fuhrmann, Fr.**, Untersuchungen über fluoreszierende Wasservibrionen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 21. p. 641—643.)
- Gibson, C. M.**, Infection Experiments with various Uredineae. (Rep. 74. Meet. British Assoc. for the Advanc. of Sc. held et Cambridge 1904. London 1905. p. 822.)
- Hansen, Emil Chr.**, Ueber die Brutstätten der Alkoholgärungspilze oberhalb der Erde. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 18/20. p. 545—550.)

- Henneberg, W.**, Bakteriologische Untersuchungen an säuernden und gärenden Hefenmaischen. (Ein Beitrag zur Kenntnis des Verhaltens des *Bacillus Delbrücki* bei verschiedenen Temperaturen.) (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVIII. 1905. N. 26. p. 253—254.)
- Lafforgue**, Action favorisante de chlorure de sodium, en solution hypertonique, sur le pouvoir pathogène des saprophytes. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 21. p. 968—969.)
- Morgan, E.**, Some observations upon the microorganisms of meat poisoning and their allies. (British med. Journ. 1905. N. 2319. p. 1257—1262.)
- Reisch, Rudolf**, Zur Entstehung von Essigsäure bei der alkoholischen Gärung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 18/20. p. 572—581.)
- Richet, Charles**, Études sur la fermentation lactique. Influence de la surface libre sur la marche de la fermentation. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 21. p. 957—960.)
- Schmidt-Nielsen, Sigval**, Die Wirkungen des konzentrierten elektrischen Bogenlichtes auf Chymosin, Chymosinogen und Antichymosin. (Mitt. a. Finsens med. Lysinst. in Kopenhagen. 1905. Heft 9. p. 199—232. 5 Fig.)
- , Die Wirkung der Radiumstrahlen auf das Chymosin. (Mitt. a. Finsens med. Lysinst. in Kopenhagen. 1905. Heft 9. p. 233—235.)
- Sigmund, Wilhelm**, Die physiologischen Wirkungen des Ozons. (Schluß.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1904. N. 18/20. p. 627—640.)
- Smith, E. Greig**, The bacterial origin of *Macrozamia* gum (*Bacillus macrozamia* n. sp.). (Proc. of the Linnean Soc. of New South Wales for the year 1904. Part 4. p. 863—868.)
- Van Laer, Henri**, Sur quelques levures non inversives. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 18/20. p. 550—556.)
- Wehmer, C.**, Versuche über Mucorineengärung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 18/20. p. 556—572. 3 Fig.)

#### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

##### Luft, Wasser, Boden.

- Vincent, H.**, Importance de la recherche des microbes anaérobies dans l'analyse des eaux portables. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 20. p. 925—927.)

##### Nahrungsmittel.

- Le questioni dei vini colorati artificialmente e delle conserve addizionate di antisettici, discusse dalla Società Piemontese d'igiene. (Giorn. d. R. Soc. Ital. d'igiene. Anno XXVII. 1905. N. 5. p. 228—229.)

##### Milch, Molkerei.

- Blackshaw, J. F.**, Cleanliness in dairy management. (Journ. of the board of Agric. Vol. XII. 1905. N. 3. p. 136—144. 6 Fig.)
- von Freudenreich, Ed.**, Bemerkungen zu dem Artikel von Direktor A. Peter, Technisch-bakteriologische Versuche in der Emmentalerkäseerei. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 18/20. p. 616—617.)
- Magi, Osvaldo**, Sulla presenza del bacillo tubercolare nel latte del mercato di Pisa. (Giorn. d. R. sc. Ital. d'igiene. Anno XXVII. 1905. N. 5. p. 217—222. 1 Fig.)
- Maxé, P.**, Sur l'oidium lactis et la maturation de la crème et des fromages. (Compt. rend. Acad. soc. T. CXL. 1905. N. 24. p. 1612.)
- Plehn**, Die Gewinnung und der Vertrieb hygienisch einwandfreier Milch. (Schluß.) (Milch-Ztg. Jg. XXXIV. 1905. N. 24. p. 289—291.)
- Severin, S. A.**, Vermindert die Zentrifugierung die Bakterienzahl in der Milch? (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 18/20. p. 605—615.)

##### Wein, Weinbereitung.

- Malverin, Frantz**, Pasteurisation des vins blancs. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 45. p. 178.)
- Mathieu, L.**, Das Leben des Weines. (Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 25. p. 292. [Journ. d'agric. prat.] )

##### Bier, Bierbereitung.

- Vogel**, Warum fallen die Herbstbiere so leicht? (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVIII. 1905. N. 25. p. 404—408; N. 26. p. 422—426.)

##### Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

- Bie, Valdemar**, Die desinfizierende Wirkung des Wasserstoffsperoxyds. (Mitt. a. Finsens med. Lysinst. in Kopenhagen. 1905. Heft 9. p. 147—163.)

- Ceradini, A.**, La soda caustica nei servizi di disinfezione. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVII. 1905. N. 5. p. 225—228.)
- Flügge, C.**, Einige Vorschläge zur Verbesserung von Desinfektionsvorschriften. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. L. 1905. Heft 3. p. 381—420.)
- Heymann, Bruno**, Die Kontrolle der Dampfdesinfektionsapparate. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. L. 1905. Heft 3. p. 421—450.)
- Levy, M.**, Die verschiedenen Desinfektionsverfahren des Raumes vermittelt Formalin. (Straßburger med. Ztg. Jg. XI. 1905. Heft 6. p. 153—156.)
- Moore, George T. and Kellerman, Karl F.**, Copper as an algicide and disinfectant in water supplies. (U. S. Depart. of agric. Bureau of plant industry. Bull. N. 76. 1905. 35 p. 8°.)
- Mosebach, P.**, Untersuchungen zur Praxis der Desinfektion. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. L. 1905. Heft 3. p. 485—501.)
- Reichenbach, H.**, Die Leistungen der Formaldehyd-Desinfektion. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. L. 1905. Heft 3. p. 451—472.)
- Sarwey, O.**, Bakteriologische Untersuchungen über Händedesinfektion und ihre Endergebnisse für die Praxis. Berlin (Hirschwald) 1905. 91 p. 8°. 4 Taf.)
- Speck, Albrecht**, Hygienische Händedesinfektion. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. L. 1905. Heft 3. p. 502—518.)
- Steinitz, F.**, Ueber vereinfachte und improvisierte Formaldehyddesinfektion. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. L. 1905. Heft 3. p. 473—484.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

#### Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- v. Aigner-Abafi, L.**, Ueber *Aporia crataegi* L. Vorkommen. Hyaline Form. Flügellänge. Urheimat. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. I. 1905. Heft 5. p. 204—209.)
- A** conifer disease (*Herpotrichia nigra*). (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 3. p. 177—179. 1 Fig.)
- B. C.**, Le mildiou de la grappe. (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIII. 1905. N. 601. p. 698—699.)
- Bourdel, C.**, Le Black rot en Armagnac. (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIII. 1905. N. 601. p. 701—702.)
- Boutan, Louis**, Un ennemi du café au Tonkin: le *Xylotrechus* du bambou sec. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 25. p. 1654—1656.)
- Buller, A. H. Reginald**, The destruction of wooden paving blocks by the Fungus *Lentinus lepideus*. (Rep. 74. Meet. British Assoc. for the Advanc. of Sc. held at Cambridge 1904. London 1905. p. 823—824.)
- Burdon, E. R.**, Pineapple galls of the spruce. (Rep. 74. Meet. British Assoc. for the Advanc. of Sc. held at Cambridge. 1904. London 1905. p. 822—823.)
- Carleton, Mark Alfred**, Lessons from the grain-rust epidemic of 1904. (U. S. Depart. of agric. Farmers Bull. 1905. N. 219. 24 p. 6 Fig.)
- Dewitz, J.**, Beobachtungen, die Biologie der Traubenmotte *Cochylis ambiguella* Hübn. betreffend. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. I. 1905. Heft 5. p. 193—199; Heft 6. p. 237—247. 1 Taf. u. 13 Fig.)
- Dittmar**, Schütte und Schüttekämpfung. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. Jg. XXXVII. 1905. Heft 6. p. 343—356.)
- Fischer, Ed.**, Zur Kenntnis der Sklerotienkrankheit der Alpen-Erle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 18/20. p. 618—623. 1 Taf.)
- Flügel, J. H. L.**, Monographie der Johannisbeeren-Blattlaus, *Aphis ribis* L. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. I. 1905. Heft 3. p. 97—106; Heft 4. p. 145—155; Heft 5. p. 209—215; Heft 6. p. 233—237. 27 Fig.)
- Hunter, W. D.**, The control of the boll weevil, including results of recent investigations. (U. S. Depart. of agric. Farmers Bull. 1905. N. 216. 32 p. 5 Fig.)
- Moore, George T. and Robinson, T. R.**, Beneficial bacteria for leguminous crops. (U. S. Depart. of agric. Farmers Bull. 1905. N. 214. 48 p. 16 Fig.)
- P.**, Die Weinblattmilbe (*Phytoptus vitis*). (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXII. 1905. N. 24. p. 236—237. 5 Fig.)
- Pacottet, P.**, *Oidium* et *Uncinula spiralis*. (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIII. 1905. N. 601. p. 681—685. 3 Fig.)
- Quaintance, A. L. and Bishopp, F. C.**, The cotton bollworm: some observations and results of field experiments in 1904. (U. S. Depart. of agric. Farmers Bull. 1905. N. 21232 p.)
- Shear, C. L.**, Fungous diseases of the cranberry. (U. S. Depart. of agric. Farmers Bull. 1905. N. 221. 16 p. 11 Fig.)

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

- Dewitz, J.**, Ueber Fangversuche angestellt mittelst Acetylenlampen an den Schmetterlingen von *Tortrix pilleriana*. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. I. 1905. Heft 3. p. 106—116.)
- Eckstein, Karl**, Zur Bekämpfung der kleinen Schädlinge der jungen Nadelholzkulturen. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. Jg. XXXVII. 1905. Heft 6. p. 356—358.)
- Goričan, Frans**, Zur Bekämpfung der Peronospora. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXII. 1905. N. 20. p. 194—195.)
- , Zur Bekämpfung der Peronospora. (Die Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 20. p. 231—233.)
- Hayunga**, Ein zuverlässiges Mittel zur Vertilgung der Stachelbeerräupen. (D. prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. Jg. XX. 1905. N. 24. p. 217.)
- Hiltner, L.**, Die weitere Ausgestaltung der Organisation des Pflanzenschutzes in Bayern. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 6. p. 61—64.)
- H.**, Zur Bekämpfung der Schachtelhalme. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 4. p. 43—45.)
- Kühlmann, Eugen**, Bekämpft die Raupe des Springwurmwicklers! (Landw. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. Jg. XXXIII. 1905. N. 21. p. 407.)
- Kupferkalkpulver mit Arsen (Marke CuAsCa) zur Bekämpfung von tierischen und pflanzlichen Obstbaumschädlingen. (Der Obstgarten. Jg. XIII. 1905. N. 6. p. 86—88.)
- Mossé, J.**, Traitements combinés contre le mildiou et l'oidium. (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIII. 1905. N. 600. p. 658—662.)
- Plot, B.**, Traitements preventifs de l'accescence des vins. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 37. p. 146.)
- Raebiger, H.**, Ueber Versuche zur Vertilgung der Ratten durch Bakterien. (Dtsche landw. Tierzucht. Jg. IX. 1905. N. 16. p. 182—183.)
- Teichert, Kurt**, Die mechanischen, chemischen und bakteriellen Kampfmittel gegen Ratten und Mäuse. (Landw. Centralbl. f. d. Prov. Posen. Jg. XXXIII. 1905. N. 24. p. 272.)
- V. G.**, Contre les maladies de la vigne. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1905. N. 40. p. 158.)
- Wahl, Bruno**, Der Apfelblütenstecher (*Anthonomus pomorum* L.) und seine Bekämpfung. (Oesterr. landw. Wehnl. Jg. XXXI. 1905. N. 18. p. 146. 4 Fig.)
- Wehsarg, Otto**, Zur Hederichbekämpfung. (Ztschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Pr. Sachsen. Jg. IX. 1905. Heft 14. p. 455—458; Heft 15. p. 487—492. 5 Fig.)
- Wie und wann bekämpfen wir die Blattläuse. (Dtsche. landw. Presse. Jg. XXXII. 1905. N. 46. p. 395.)

### Inhalt.

- Blau, Oskar**, Ueber die Temperaturmaxima der Sporenkeimung und der Sporenbildung, sowie die supramaximalen Tötungszeiten der Sporen der Bakterien, auch derjenigen mit hohen Temperaturminima, p. 97.
- Ehrenberg, Paul**, Stickstoffverluste in faulenden Peptonlösungen, ein Beitrag zur Methodik der bakteriellen Bodenuntersuchung, p. 154.
- Lukin, Matisslaw**, Experimentelle Untersuchungen über Sterilisierung der Milch mit Wasserstoffsuperoxyd, unter spezieller Berücksichtigung des von Budde angegebenen Verfahrens. (Schluß), p. 165.
- Bodella, A.**, Einiges über die Bedeutung der direkten mikroskopischen Präparate für das Studium des Käsereifungsprozesses, p. 143.
- Vogel, J.**, Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes durch Mikroorganismen, p. 174.
- Neue Litteratur**, p. 188.

# Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XV. No. 78.

## Original-Mitteilungen.

*Nachdruck verboten.*

### Description of a germ whose production of red pigment is limited to its cultivation upon a single medium.

By **Mary Didlake**,

Assistant in Entomology and Botany, Kentucky Agricultural Experiment Station,  
Lexington, Kentucky.

With 1 Table.

#### Introductory note.

The following brief article contains the results of observations and experiments extending over a period of two years, during which time the germ in question has been the subject of almost daily study.

The bacillus is undoubtedly one that has not been previously described, since the ordinary culture media, such as potato, beef broth, and beef-peptone agar, are all uncongenial soils for it. It grows luxuriantly, producing typical, actively motile individuals, and rich red pigment, only on a peculiar and little used medium made from an infusion of roots of the Soy Bean plant, agar, and a small percent. of asparagin and cane sugar.

Statements made as to the character and behavior of the organism are not based upon single experiments: but each medium mentioned was tested repeatedly, and then, in every instance, a transfer was made back to the original medium in order to be sure that the germ was still the one capable of producing the red pigment.

For convenience and the sake of brevity, I have termed the two preparations most used in the cultivation of the organism, "Soy agar" and "ordinary agar".

By Soy agar is meant a medium made as follows: A quantity of fresh roots of the Soy Bean plant (*Glycine hispida* Maxim.), chopped into small pieces and crushed in a mortar, was covered with water and boiled until a strong infusion was obtained. This was filtered, and to the fluid  $\frac{1}{2}$  per cent Saccharose (cane sugar),  $\frac{1}{4}$  per cent asparagin, and  $1\frac{1}{4}$  per cent agar agar added; this was boiled, filtered again and sterilized. The ordinary agar was made with 3 grams of Liebig's Beef Extract to one litre of water, 1 per cent peptone,  $\frac{1}{2}$  per cent sodium chloride, and  $1\frac{1}{4}$  per cent agar agar. In both cases the growth was best when the medium was not neutralized, but left with a slightly acid reaction.

The best growth was obtained at ordinary room temperature. Incubation at  $37\frac{1}{2}$  degrees seemed rather to retard both the growth and the pigment production.

#### History.

The organism here described was found in making a series of plates from the Lexington city reservoir water. For these platings the ordinary

beef-peptone agar and gelatin were commonly used, but at this time there happened to be on hand in the laboratory a quantity of agar made with an infusion of Soy Bean roots,  $\frac{1}{2}$  per cent cane sugar and  $\frac{1}{4}$  per cent asparagin, upon which the organism occurring in the root-nodules of the Soy Bean (*Glycine hispida* Maxim.) had been successfully isolated and cultivated. This Soy agar was occasionally used in the Petri dishes in the reservoir water investigation, for the sake of comparing the number of colonies developing upon it with the number to be found on the ordinary agar plates.

On December 24, 1902, some bright red colonies appeared on a plate of Soy agar, and from these slant agar tubes of both the ordinary and Soy agar were inoculated. The former showed no growth at all, while the latter rapidly developed a luxurious, shining, raspberry red growth, later becoming darker red with a metallic, greenish iridescence.

Microscopically, the organism proved to be an unusually long, slender bacillus, about the size of the Anthrax bacillus, very actively motile, and forming no spores. In fresh cultures a day or two old, one was tempted to describe the individuals as being "furiously" or "frantically" motile, so rapid and continuous was the darting to and fro.

After the second transfer upon Soy agar, it was noticeable that the red color did not appear as promptly as at first. The growth was just as luxuriant as before, but of a pure milky white, gradually changing to pink, and in ten or twelve days to the typical rich red. It was feared that the pigment-producing power was weakening and would be lost; but in the course of two years no further diminution has occurred. The shade of red, however, varies considerably, especially in later cultures; and it becomes more of a purplish or wine red on agar a little less firm than usual, or on that made from a weak infusion of the roots. Rejuvenation by growing the bacillus for some time in plain reservoir water gave varying results. Occasionally cultures started directly from these water cultures gave a bright red growth at once, and again, a white growth gradually becoming red.

Repeated efforts made to grow the organism on the beef-peptone agar and gelatin gave only negative results until the last of March, 1902, after it had been cultivated for three months on the Soy agar. The peptone used in previous experiments was the last from a bottle that had been on hand some time; in the agar made up in March the peptone was from a fresh, newly opened bottle. Thus the failure to secure any growth in December upon the ordinary agar, may have been due to the condition of the peptone then used. This theory would seem to be borne out by the fact, discovered later, that, after growing the organism for several weeks in plain water, it could be transferred to ordinary agar and give just as good a growth as that of a transfer taken directly from a Soy agar culture.

The characteristic growth finally obtained on the ordinary agar was not quite so free and luxuriant as that on the Soy agar, and never showed the slightest tendency to produce the red pigment. The mass was more viscid, and was clear white turning to muddy. In almost every case the surrounding, slant surface of the agar became an opaque, cloudy white. Microscopically, for the first day or two, the bacilli retained their regularity of form and power of motion; but in cultures a week old, not a single motile individual could be found, the bacilli being irregular and distorted, curved or bent into V-shapes and branched Y-shapes. The or-



ganism did not die out under these circumstances; even after three weeks if transferred to a tube of Soy agar, its form, motility, and power of producing pigment were all quickly restored.

In plain, sterilized reservoir water the organism could be kept alive for a month at a time. This fact made it easy to keep the germ growing in the laboratory when other culture media could not be obtained readily. In the tubes of water the growth settled to the bottom in a cloudy film, retaining a faintly reddish tinge if the original loopful used for inoculation were taken from a red growth on the Soy agar. Microscopically, the individual bacilli, when grown thus in water, seemed to retain their uniform shape for some time, but very few were still motile after the third day, and none after a week.

On potato, upon which *Bacillus prodigiosus* produces its most vivid pigment, this organism gave a rather luxuriant yellowish, muddy, viscid growth. Motility and regularity of form were soon lost.

An effort was made to grow the germ on macaroni, softened by boiling in water, and sterilized; but no growth appeared.

Ordinary baker's bread, moistened and placed in sterile Petri dishes, also proved an unacceptable medium.

In an effort to discover, if possible, upon just what constituents the pigment production depended, attempts were made to grow the organism on all of the following media:

Soy agar leaving out the asparagin.

Soy agar leaving out the sugar.

Ordinary beef-peptone agar with  $\frac{1}{4}$  per cent asparagin added.

Ordinary agar with  $\frac{1}{2}$  per cent cane sugar added.

Ordinary agar with both asparagin and sugar added.

A medium of peptone, water and agar, leaving out the beef.

Also some agar was made exactly similar to the Soy agar originally used, except that the infusion was made with roots of the Alfalfa (*Medicago sativa* L.) instead of the Soy Bean.

In every case a more or less luxuriant growth appeared, but in no instance was there any pigment production. The conclusion indicated, as far as these experiments went, was that the power of producing red pigment by this organism was limited to its growth upon a solid agar medium containing only the three ingredients, — Soy Bean roots, sugar and asparagin.

On the Soy agar loss of motion seemed to indicate loss of life, for after all individuals became motionless no new growth could be obtained by transferring to a new tube. From the ordinary agar cultures, though every bacillus might be motionless, a new growth could be started either upon a fresh Soy agar tube or upon another ordinary agar one.

A loop of bright red growth taken from a fresh culture on Soy agar showed no sign of the pigment under the microscope, the individuals singly and in clumps appearing colorless. A loop taken from an old culture, of about seven weeks for instance, showed the pigment clinging to clumps of the bacteria, though the separate individuals were still colorless.

### Description.

Source. Lexington, Kentucky, reservoir water drawn from tap in the laboratory, December 22, 1902.

Morphology. A long slender bacillus, varying in length from 5 to 8 microns, and about 1.5 micron broad. Very straight, uniform and

regular in shape; frequently seen with a faint line of constriction near the middle. This is its typical form when grown on an agar medium made from an infusion of Soy Bean roots with some cane sugar and asparagin added. On almost every other medium the bacilli become distorted, bent, and irregular. Forms no spores.

Motility. On Soy agar very actively motile; motility retained by some individuals in cultures five or six weeks old. On ordinary beef-peptone agar and most other media, power of motion lost in from three days to a week.

Stained best with carbol-fuchsin.

Cultural features:

Soy agar (a solid medium of agar added to an infusion made from roots of Soy Beans with  $\frac{1}{2}$  per cent cane sugar and  $\frac{1}{4}$  per cent asparagin). Growth luxuriant, raised, smooth, shining, brilliant raspberry red; later becomes darker red with a greenish, metallic iridescent lustre. Sometimes growth at first pure milky white, gradually turning to pale pink then in the course of ten or twelve days to the characteristic red; quantity of fluid deposit at the base of slant surface, even in old, very dry tubes, turns red much more slowly than the growth on the solid surface.

Soy agar plates. Deep colonies salmon pink, breaking at the surface into bright red patches, margin circular or irregular.

Soy gelatin. Stab culture, faint pink, or almost white, growth along needle track, and convex "nail-head" growth at surface, gradually flattening out, never spreading much nor getting deeper pink. No liquefaction. Growth stiffer than on agar, never so luxuriant.

Soy gelatin plates. Small round colonies, pure white, never spreading. Transferred to Soy agar, give bright red, luxuriant growth.

Ordinary beef-peptone agar. At first, though tried repeatedly, could get no growth at all. Later seemed to grow quite freely, but never under any circumstances producing the red pigment. Growth dirty whitish or muddy, viscid: In slant tubes the whole brown surface of the agar surrounding the line of growth becomes dry and drawn-looking, and cloudy white. Bacteria in a few days lose regularity of form and power of motion; but seem to retain vitality, for even after three weeks when transferred back to Soy agar, shape and motility are immediately regained, and the growth becomes bright red.

Beef-peptone gelatin. Growth scarcely perceptible, no pigment production, no liquefaction. Power of motion and regularity of form soon lost.

Potato. Spreading, smooth, moist, soiled creamy growth; viscid. Red along needle stroke never spreads, becomes deep wine color, and is finally overgrown by the cream colored mass. Motility and shape retained slightly longer than when grown upon ordinary agar.

Milk. Unchanged, no acidity, no curdling, no coloration. Organism lives and retains regularity of form and power of motion longer than on most media tried.

Reservoir water. The faintly reddish growth sinks to the bottom of the tube, and remains alive for a month or more; cultures started from it on Soy agar frequently seem to be more vigorous, and to become bright red more quickly than growth transferred from other agar cultures. Though vitality remains so long in these water cultures, motility is lost in a few days.

*Centralblatt f. Bakteriologie, Abt. II. Bd. XV.*

**Mary Didlake**, *Description of a germ whose production of red pigment etc.*



The growth on Soy agar ten days old.

Verlag von **Gustav Fischer in Jena.**



Soy agar with glucose. No gas production. Surface growth white, pinkish around rim.

Fermentation-tube (fluid from Soy Bean infusion with asparagin, Saccharose and Lactose added). Cloudy, whitish growth in bottom of bulb, no gas.

Alfalfa agar (infusion of Alfalfa roots with asparagin and cane sugar added). Free growth, thick, milky white, occasionally faintly pink at edges, soon passing away, and the whole mass becoming dirty white; never any red pigment, though tried repeatedly. Motility and shape retained better than on ordinary agar.

Soy agar with the sugar omitted. Growth scant, flat, colorless, somewhat granular, never spreading much. Motility and shape lost in a week.

Soy agar with the asparagin omitted. Free growth, faintly pink, by third day fading to muddy brownish. Motility and shape lost in ten days.

Macaroni. No growth.

Moist bread. No growth.

The organism was tested three times on each of the following series of preparations:

Plain water and agar. No apparent growth.

Water-agar-cane sugar. Good, free, raised, pearly white growth turning brownish. None motile after the fourth day.

Water-agar-asparagin. Very slight, flat, transparent growth.

Water-agar-cane sugar-asparagin. Fairly good, raised, transparent, white growth. A few still motile after nine days.

Water-agar-peptone. Fair, raised, milky white growth, soon flattening out; viscid; an iridescent, whitish layer formed over the surrounding agar surface. Motility lost in four days.

Water-agar-peptone-cane sugar. Slight, flat, transparent white growth. None motile after the second day.

Water-agar-peptone-asparagin. Fair growth, slightly raised, soiled white, viscid. Very few motile after the second day.

Water-agar-peptone-cane sugar-asparagin. Fair, raised, transparent growth, later becoming brownish, almost the color of the agar. None motile after the second day.

Water-agar-peptone-beef (ordinary agar). Luxuriant, raised, opaque, milky with growth, later dirty white. By fourth day all surrounding surface of the brown agar cloudy white. Motility lost in three to five days.

Water-agar-peptone-beef-cane sugar. Free, convex, white growth, later flattening, and the surrounding agar surface becoming cloudy. Motility lost in three days.

Water-agar-peptone-beef-asparagin. Free, raised, milky with growth, later yellowish, and the surrounding agar surface slightly cloudy white. Motility lost in three days.

Water-agar-peptone-beef-cane sugar-asparagin. Fair growth, white, never spreading much, viscid. None motile on second day.

## Some observations on the biology of the olive-tubercle organism.

By **Erwin F. Smith,**

Department of Agriculture, Washington, D. C.

Recently the writer's attention has been called to a paper by Ruggero Schiff (*Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. p. 217*) on the bacillus of the olive-knot, in which it is stated: 1) that this organism coagulates milk promptly and dissolves the coagulum in four to five days; 2) that it is a prompt and rapid spore-producer in bouillon, especially at 37° C. Spores begin to be visible, it is said, after 20 hours, and by the third day they are free and very numerous; old cultures consist only of spores. These spores are very resistant to steam-heat; they survive 15 minutes exposure at 102° C.

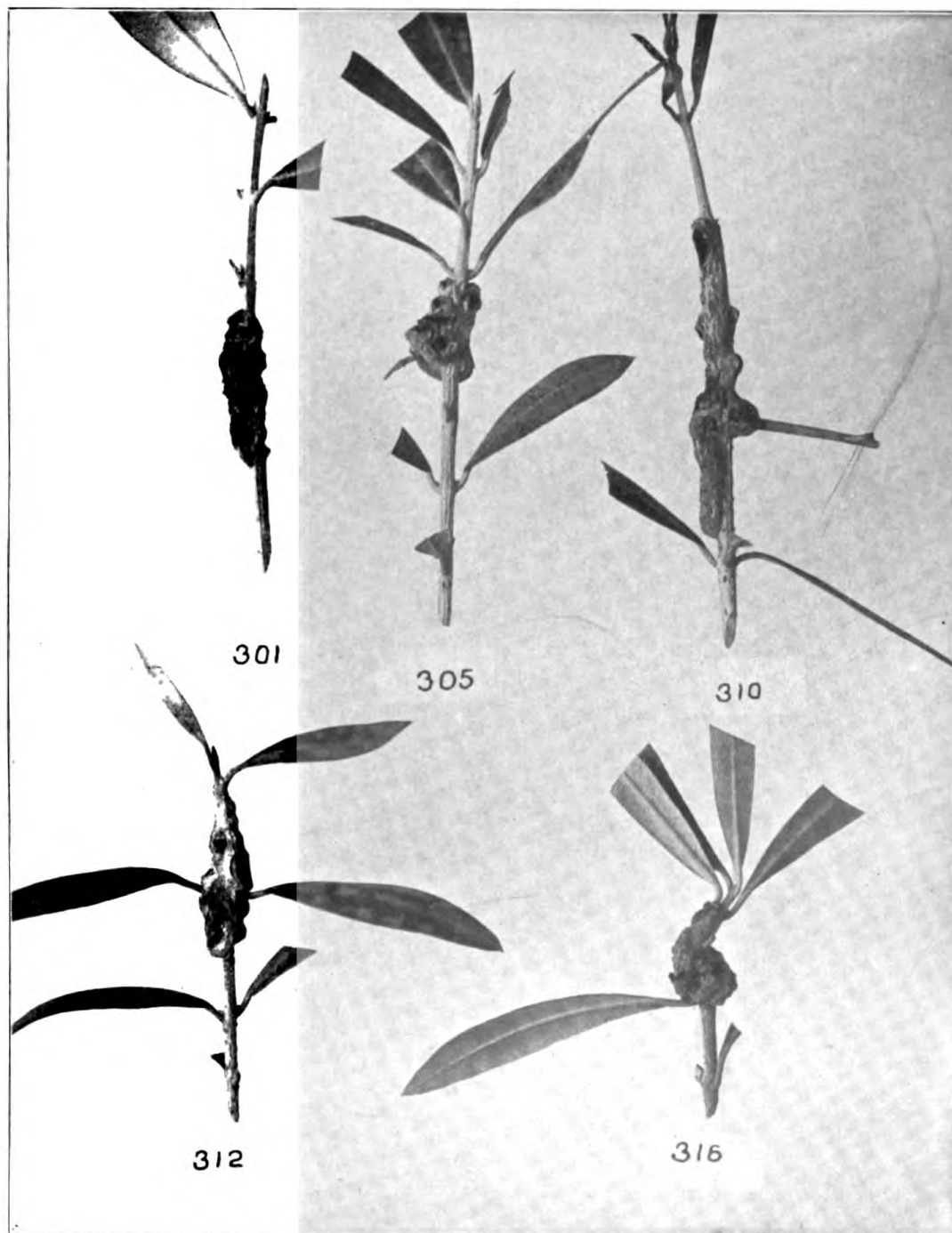
The writer has been interested in the olive-knot organism for some time, and for the last two years it has been kept continuously in pure culture in his laboratory. During this time many successful inoculations have been made (*vide Science*, March 11, 1904) and a considerable body of facts has been gathered respecting its morphology and cultural characters. The strain of organism used principally in these experiments was plated out of an olive-tubercle obtained from California. Recently the same organism was plated out of small olive-knots obtained from Italy. So far as tested these two strains, obtained from localities six thousand miles apart, are alike in morphological and cultural characters and may be assumed to fairly represent the olive-tubercle organism. Both are actively pathogenic, but they do not coagulate milk and, so far as I have been able to discover, do not produce any spores. Furthermore, the olive-knot organism will not grow at 37° C, the temperature at which Mr. Schiff's organism produces spores most rapidly, or at least it can be cultivated at this temperature only for a short time on certain media and with difficulty, the maximum temperature at which growth will take place in bouillon being about 36.5° C. Neither at 36°, at 30°, nor at 23° C, have I been able to discover any spores, either in young or old cultures.

After reading Mr. Schiff's article, the following additional experiments were undertaken. Starting with young agar-cultures of three derivations, transfers were made into sterile litmus-milk and into moderately alkaline peptonized beef-bouillon with the following results:

### Bouillon.

- 1) California I, inoculated March 3; promptly clouded.
- 2) Italy R, inoculated March 3; promptly clouded.
- 3) Italy O'G, inoculated March 3; promptly clouded.

These three cultures were kept in a thermostat at 30° C. until March 14. During this time they were twice examined in hanging drops for endospores, but none could be detected. The examinations were made with Zeiss 2 mm 1,30 n. a. apochromatic objective and No. 12 compensating ocular. The three tubes were then heated for 20 minutes in the water-bath at 69° to 71.5° C. Then a 3 mm loop of the cloudy fluid was taken from each one of the heated tubes and put into tubes of moderately alkaline beef-bouillon, which was incubated in the dark for



Verlag von Gustav Fischer in Jena.





three weeks at room-temperatures (approximately 23° C). No clouding resulted. The same bouillon inoculated with loops taken from these cultures immediately before heating clouded promptly. This shows that if any resistant spores were present they were less in number than one to each 3 mm loop. To make assurance doubly sure, transfers were again made from the heated cultures after waiting ten days for any spores that might be in them to germinate and restock the fluids. These transfers were into bouillon well adapted to the growth of the organism, using 3 mm loops, but no growth ensued (17 days).

**Conclusion:** This organism does not produce endospores in bouillon because none are visible under the microscope and because such cultures are sterilized by exposure for 20 minutes at 71° C,

Even the above statement does not express the whole truth. This organism is so sensitive to heat that an exposure in the water-bath for 15 minutes at 49° C, or 10 minutes at 50° C, is sufficient to prevent tubes of inoculated bouillon from clouding.

#### Litmus milk.

(This milk originally resembled the color of lilac blossoms.)

- 1) California I.
- 2) Italy R.
- 3) Italy O.G.

These tubes were inoculated carefully and watched for 30 days, during which time the only visible change was a gradually increasing alkalinity of the milk, as compared with the three check tubes. These remained the original lilac color, while the three inoculated tubes became a deep blue. There was no precipitation of casein and the fluid remained opaque. The litmus was not reduced.

**Conclusion:** Acids are not formed in milk by the organism nor does it coagulate milk by means of a lab ferment. The milk gradually becomes alkaline.

These results are confirmations of those obtained earlier, and in the case of two of the three strains used they were obtained with the immediate descendants of cultures used to produce knots, i. e., as soon as it was determined definitely (within three weeks) that knots were forming as the result of needle-punctures, the above experiments were instituted. The California strain has been in the laboratory much longer than the others. The strains designated "Italy R" and "Italy O.G." were plated out of small olive-knots obtained from Genoa about four months ago.

Some of the knots which developed as a result of these inoculations are shown on the accompanying plate. The photograph was made 3 months and 20 days after inoculation. These inoculations were made in the hothouse on young, sound plants, and no tumors resulted from any of the numerous contrôl punctures. No. 301 is Ascolano; 305, Leccini; 310 and 312, Nevadillo Blanco; 316, not labeled.

If the surface of young tubercles is first carefully sterilized with water containing mercuric chloride (1:1000), Petri-dish poured cultures made from them after crushing in bouillon generally yield only this one organism. Old knots, on the contrary, may yield a variety of saprophytic organisms, the kind depending, of course, on a variety of circumstances. Thus there have been obtained from such knots by the writer and his assistants several kinds of fungi and also white and

yellow non-pathogenic bacteria. The true parasite grows rather slowly on the surface of nutrient agar-agar at 25° C, in Petri-dish poured plates, in the form of small round white colonies; its growth is also white on potato, silicate jelly containing Fermi's solution, nutrient starch jelly, nutrient gelatin, etc. The citron or cedrino color mentioned by Savastano evidently applies to some intruder.

The writer is persuaded that no olive-knots can be produced with pure cultures of the spore-bearing organism described by Mr. Schiff. This probably bears peritrichiate flagella, or is non-motile, while the true olive-tubercle organism is motile by means of several polar flagella. The right organism does not liquefy gelatin, and does not reduce nitrates in peptonized bouillon. It grows freely in Cohn's solution, producing therein numerous crystals of ammonium magnesium phosphate. It is not a gas-producer in any media yet tested, and has not been observed to produce tangled threads resembling anthrax.

June 2, 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die Tuberkelkrankheit des Oelbaumes.

[Aus dem Pathologischen Institut der kgl. Universität Pisa.]

Von Dr. **Ruggero Schiff-Giorgini** <sup>1)</sup>.

Die schon Plinius bekannte Tuberkelkrankheit der Oelbäume wurde erst in jüngerer Zeit durch Arcangeli und Savastano eingehender erforscht. Arcangeli (1) gibt eine Beschreibung der Tuberkel und macht darauf aufmerksam, daß eine Tuberkelbildung an verwundeten Stellen, meist an Blattnarben, doch öfters auch auf jungen Aesten ohne vorhergehende Verletzung erfolgt. Er fand weder Insekten noch Pilze in jungen Tuberkeln, wohl aber eine in besonderen Hohlräumen wohnende Bakterie, die er als *Bacterium oleae* bezeichnete, jedoch ohne an ihrer Wirkung als Krankheitserreger festzuhalten.

Bedeutend weiter kam Savastano (2), dem die Reinkultur des genannten Spaltpilzes und die Infektion damit gelang; später sind diese Resultate durch Voglino (3) und Cavaia (4) bestätigt worden. Eine anatomische Beschreibung der Krankheit trifft man auch bei Prillieux (5). Die Angabe von Vuillemin (6), derzufolge *Chaetophoma oleacina* der Erreger sein sollte, ist vereinzelt geblieben.

Es fehlte bisher an einer gründlichen Bearbeitung der Frage, insbesondere in Hinsicht auf die histologische Entwicklung der Neubildung, die Möglichkeit einer Wanderung des Agens im Baumkörper nach Art der metastatischen Infektionen bei den Tieren, die kulturellen Eigenschaften des Erregers, seine Biologie, schließlich die Reaktionsweise der Oelbaumpflanze.

1) Uebersetzt von Dr. E. Pantanelli-Rom. Vorläufige Mitteilung hierüber in diesem Blatte. Abt. II. Bd. XII. p. 217 (1904). Die ausführliche Abhandlung mit Tafeln erscheint demnächst als Denkschrift der kgl. Accademia dei Lincei in Rom.

## I. Entwicklung und Ausbildung des Tuberkels.

Die erste Andeutung einer Tuberkelbildung<sup>1)</sup> auf dem Oelbaumzweige besteht aus einer winzigen Anschwellung, die im Laufe einiger Monate beträchtlich groß wird. Dabei behält sie entweder einen runden Umfang oder sie wird durch Bildung tiefer Risse unregelmäßig zerklüftet, wobei die äußeren Gewebe eine partielle Verkorkung erfahren.

Die meisten Tuberkel treten auf Blattpolstern, manche auf Wundstellen (Hiebunden, Hagelschläge, Insektenstiche u. s. w.), manche den Aesten entlang ohne scheinbaren Zusammenhang der Einwirkungen auf.

Diese Neubildungen wurden von Savastano und den übrigen Forschern nach den vorwiegend vertretenen Geweben als Rinden-, Holztuberkel u. s. w. unterschieden. Nach meinen Beobachtungen hängen die histologischen Unterschiede mit dem Ursprung der Tuberkel eng zusammen. Denn die durch äußere Infektion direkt entstandenen Tuberkel können im älteren Zustande durch Auswanderung von Bakterien in einer gewissen Entfernung metastatische Tuberkel entstehen lassen, welche in ihrem Bau von den primären etwas abweichen.

Die Bildung eines primären Tuberkels wird zuerst durch eine aus Parenchymzellen bestehende Hyperplasie der Rinde eingeleitet, wo sich bald zerstreute Bündeln von Bastfasern und -zellen neubilden; eine scharfe Abgrenzung der verschiedenen Gewebe wird bald unmöglich. Bakterien trifft man zuerst in einigen Parenchymzellen an der Grenze des gesunden Gewebes angehäuft, später bilden sich durch die Zerstörung dieser Zellen Hohlräume, wobei die Zellwände anfänglich eine gewisse Verkorkung erleiden, dann aber in Lösung gehen. Ihre Auflösung schreitet allmählich derart fort, daß sich eigentümliche, dendritisch angeordnete Ueberbleibsel längere Zeit erhalten. Bald werden im neugebildeten Teile Tracheiden in charakteristischer, knäuelartiger Anordnung gruppenweise angelegt.

Zu dieser Zeit fängt auch der nicht direkt befallene Zentralcylinder an, durch rege Neubildung gegen die Peripherie hin zu reagieren. Erst in alten Tuberkeln wird auch der Holzcylinder angegriffen, doch in etwas anderer Weise als in den später zu beschreibenden metastatischen Tuberkeln. Die Bakterien, welche in die meisten Rindenzellen nunmehr eingedrungen sind, gelangen schließlich zum Zentralcylinder; die Markstrahlen werden natürlich zuerst angegriffen und gewähren den Bakterien einen leichten Eingang bis in die Gefäße, welche doch schließlich auch der Zerstörung anheimfallen.

Zuweilen nimmt die Infektion von der Rinde aus den Weg über den Markstrahl und kommt auf diese Weise bis in das Frühlingsholz, wo sie sich seitlich verbreitet, d. h. auf der Grenze zwischen Früh- und Herbstholz. Dabei verändern sich die Zellen und wird der infektionsleitende Markstrahl zu einer weiten Brücke zwischen dem innerlichen und dem größeren, rindenständigen Herde. Auch auf diese direkte Weise gelangen die Bakterien in die Gefäße, wo sie sich auf größere Entfernungen verbreiten.

Das Vorhandensein und die Verbreitung von Bakterien innerhalb

1) Es mag hier nicht unerwähnt bleiben, daß es bei der harten Beschaffenheit solcher Gebilde vorteilhaft ist, die Stücke mittels des Mikrotoms von Fiori (Malpighia. 1900) frisch zu schneiden. Die Stücke werden auf dem Mikrotom durch ein Gemisch aus Wachs und Kolophonium orientiert und befestigt. Das Schneiden erfolgt nachher unter stetigem Befeuchten des Messers mit Alkohol.

der Gefäße höherer Pflanzen war Smith (7) bezüglich des *Pseudomonas campestris*, *Bac. solanacearum* und *Bac. tracheiphilus* schon bekannt. Ueber metastatische Infektionen berichtet aber Smith nirgends. Vielmehr sollte es sich um echte Metastase bei der von Brizi (8) näher untersuchten Bakteriose des Sellerie handeln.

In unserem Falle können die in den Gefäßen herumschwärmenden Bakterien die Bildung neuer Tuberkel veranlassen, wobei es nicht unwahrscheinlich ist, daß die Anhäufung derselben unter der Kuppe des Gefäßes mitspielt.

Die Bildung eines solchen metastatischen Tuberkels beginnt mit der Mißfärbung und Obliteration einiger oder mehrerer von Bacillen verstopfter Gefäße. In dieser Zeit sieht die Rinde noch ganz gesund aus und ein Durchgang nach dem Holze hin fehlt vollständig. Bei der schließlichen Zerstörung der befallenen Gefäße verbreitet sich der Parasit in die herumliegenden Gewebe, wobei zuerst die Markzellen angegriffen werden und unter dem parasitischen Reize sich lebhaft, und zwar in zum Infektionsherde tangentialer Richtung zu teilen anfangen. Das dadurch entstehende, cambiumähnliche Gewebe bildet den neuen Tuberkel.

Die Zersetzung des Holzes schreitet dann nach außen fort, indem zunächst die weiteren Gefäße durch engere ersetzt werden, wodurch die Gewebe an Dichte und Widerstandsfähigkeit etwas gewinnen. Hier gelangt auch die Infektion vorzüglich über die Markstrahlen bis in das Cambium, welches der starken Keilwirkung nachgibt und reißt, ohne jedoch seine Tätigkeit einzustellen. Es kommt aber nur zu einer verworrenen Bildung von Phloëm- und Xylemschichten, während sich nach außen mehrere Zellen nach Art einer sklerenchymatischen Schutzscheide verdicken; einer solchen neugebildeten Bastschicht, welche als Schutz gegen das Eindringen des Parasiten von außen her dienen kann, kommt hier natürlich keine Schutzbedeutung zu.

Schließlich erwacht auch im Rindenteil eine rege Bildungstätigkeit, wobei die neu entstehenden Rindenschichten mit den verstellten Gefäßbündeln ineinander gemischt erscheinen. Die Bakterienhöhle befindet sich bei solchen metastatischen Tuberkeln meistens im Holzteil der Neubildung. Daher bildet sie ein Zeichen, um die metastatische resp. primäre Natur eines Tuberkels zu erkennen; haben wir doch gesehen, daß die primitiven Tuberkel rindenständige Höhlen aufweisen.

Das neugebildete Holz besteht hauptsächlich aus ungeordneten und unregelmäßigen Tracheiden; es fehlen weitlumige Gefäße<sup>1)</sup>. Man vermißt ebenfalls Cambiformzellen und Siebröhren im Kribralteil; diese Elemente werden durch eirunde, reihenlose Zellen ersetzt. Man bemerkt hier ebenso wie bei primitiven Tuberkeln im Rindenteil zerstreute Knäuel aus verholzten Elementen.

Seltener kann eine Metastase durch das Phloëm herbeigeführt werden. In diesem Falle habe ich anstatt der gewöhnlichen Proliferation die Bildung mächtiger verkorkter bzw. sklerotischer Schutzschichten gegen die Verbreitung der Infektion beobachtet. Das Xylem zeigt sich dabei, besonders den Markstrahlen entlang, wie gewöhnlich angegriffen.

Die primitive resp. metastatische Natur der häufig auftretenden Blattpolstertuberkel läßt sich nicht immer mit Sicherheit ent-

1) Dabei mag nicht unerwähnt bleiben, daß bei der tierischen Tuberkulose eine Neubildung von Gefäßen ausbleibt.

scheiden. Das Hineingelangen von Bakterien in Blattnarben wird natürlich die Bildung primitiver Tuberkel veranlassen; es kann sich aber auch um metastatische Tuberkel handeln, welche dort ihren Sitz genommen haben. Bei solchen Tuberkeln auf Blattnarben entsendet das Mark einen Fortsatz nach dem Tuberkel hin, als sollte sich das nötige Markgewebe für den neuen heranwachsenden Ast ausbilden, nur daß sich der Markkeil innerhalb der neugebildeten Gewebemasse verliert. Dadurch wird eine große Menge von Stärke dem Tuberkel zugeführt, um dort von der Amylase des Parasiten aufgelöst zu werden.

Die Tuberkel fahren sehr lange zu wachsen fort, wobei die äußeren Schichten eine allmähliche Verkorkung erleiden. Da nun aber die innere Partie immer weiter zuwächst, werden die äußeren Gewebe auseinander-gesprengt; dadurch erhalten ältere Tuberkel die eigentümlichen Risse und Spalten. Dieser Vorgang kann mit der normalen Borkenbildung der Holzgewächse verglichen werden:

Nur selten wird der befallene Zweig getötet, wohl aber bleibt er meistens im Wachstum bedeutend zurück, möglicherweise auch infolge des Stärkeverbrauches, den die beschriebene Markbildung bis in den Leib der Tuberkel bedingt.

## II. Beschreibung des *Bacillus oleae*.

Ich brauche hier nicht weiter nachzuweisen, daß *Bacillus oleae* der Erreger der Krankheit ist; es mag außer dem Hinweise auf frühere Autoren angeführt werden, daß eine Impfung gesunder Pflanzen mit Glycerinbouillonreinkulturen des fraglichen Organismus durchgehends erfolgreich gelang.

Bezüglich des *Bacillus*, dessen Biologie sehr lückenhaft bekannt war, habe ich folgendes feststellen können:

### Kulturelle Eigenschaften.

*Bacillus oleae* gedeiht auf fast allen gebräuchlichen Nährböden, wobei er ein verschiedenes Aussehen annimmt. Auf Bouillonagar gestrichen, bildet er nach 12 Stunden eine dünne, halbdurchscheinende, gelappte, an Breite und Dicke bald zunehmende, gelblich-weiße Haut. Beim weiteren Wachstum bilden sich auf der Haut erhabene Querfalten. Zu dieser Zeit sieht die Haut glänzend und feucht, in sehr alten (4—5 Monate) Kulturen schmutzig-feucht und schmutzig-weißlich aus.

Bei der Stichkultur entwickeln sich Kolonien nur auf der Oberfläche in Form kleiner, gelappter, eingebuchteter Schildchen; im Innern des Nährbodens fehlt ihnen der nötige Sauerstoff. Die Kolonien wachsen zunächst sehr rasch, stellen jedoch nach 6—7 Tagen ihr Wachstum ein und erinnern dann an die Kolonien einiger Pseudotuberkulosen.

In Plattenkultur ist das Wachstum ein sehr rasches, und zwar auf der Oberfläche in Form rundlicher, weißgelblicher, erhabener Schilder, welche die ganze Platte überwuchern; die tieferen Kolonien bleiben in ihrem Wachstum als rundliche Flecke zurück.

Auf Glycerinagar erzielt man eine kümmerliche Entwicklung; das gebildete Häutchen sieht trocken, fast staubig aus.

Der beste Boden wird aus Zuckeragar hergestellt. Darauf ist eine Hautbildung bereits 4 Stunden nach der Aussaat sichtbar; jedenfalls ist sie nach 8 Stunden deutlich geworden. Diese Haut ist sehr zäh und läßt sich mit der Nadel nur fetzenweise abheben. Sie nimmt

bald die ganze Oberfläche ein und steigt auf den feuchten Wänden des Probierglases empor.

Auf mit Gallerte von *Chondrus crispus* hergestellten Nährböden setzt ebenfalls ein schnelles Wachstum ein; eine Haut kann man schon nach 7—8 Stunden wahrnehmen. Im ganzen verhalten sich hier die Kolonien wie auf Bouillonagar.

Auf Glycerinkartoffeln bildet unser *Bacillus* eine durchscheinende, gallertige, auf längere Zeit wachstumsfähige, im älteren Zustande gelbliche, etwas dicker werdende Haut. Er entwickelt sich auch im glycerinhaltigen Wasser am Boden solcher Kulturen sehr üppig.

In gewöhnlichen oder mit Stärkekleister oder Glycerin versetzten flüssigen Böden bekommt man bereits nach 6 Stunden eine Trübung und bald wird eine dicke Kahlhaut gebildet. Bei ultraoptimalen Temperaturen kommt es sofort zur Hautbildung. Nach 15—20 Tagen ist das Wachstum jedenfalls beendet, die Brühe wird klar und ein dicker Bodensatz aus Sporen setzt sich ab.

Auf Gelatine wächst unser *Bacillus* etwas langsamer. Bei 20° bekommt man eine ziemlich starke Verflüssigung dem Stichkanal entlang. Milch gerinnt in ca. 48 Stunden; das Gerinnsel löst sich aber später wieder auf.

#### Mikroskopische Merkmale.

Je nach den Kulturbedingungen wechselt unser *Bacillus* seine Gestalt innerhalb ziemlich weiter Grenzen. In der Pflanze sieht er kurz aus, mit abgerundeten Enden; die einzelnen Zellen liegen angehäuft, nur selten sind Ketten aus 2—3 Zellen zu beobachten. Im Organismus werden Sporen nicht gebildet, obwohl dieselben auf künstlichen Nährböden leicht entstehen. Wir werden weiter unten auf die Bedeutung dieser Tatsache hinzuweisen haben.

Auf künstlichen Nährböden erscheint der *Bacillus* beweglich, durchscheinend, grünlich, oft mit kleinen Körnchen erfüllt. Die Sporen sind auch im lebendigen Bakterium wahrzunehmen als kleine, stark lichtbrechende, entschieden grüne, scharf umgrenzte, eirunde Bläschen.

Wenn sich eine Zelle zur Sporenbildung anschickt, so hört die Bewegung auf, es differenziert sich im Protoplasma eine hellere Zone, welche immer schärfere Konturen gewinnt, bis sich eine wirkliche Sporenmembran ausbildet; dabei wird die Zellhaut der Mutterzelle ein wenig aufgetrieben. Zuweilen wird die Spore terminal angelegt, wodurch Trommelschlägerformen entstehen. Sporen bilden sich sehr frühzeitig; ihre Anwesenheit kann aber dann nur bei geeignet gefärbten Präparaten festgestellt werden. Die Körnchen, die man mit den gewöhnlichen Färbemitteln zur Differenzierung bringt, sind wahrscheinlich nur Chromidien.

Nach der Sporenreife wird die Mutterzelle matt und undeutlich, bis man nur zwei winzige Fleckchen an den ursprünglichen Zellpolen wahrnimmt. In Ketten vereinigte Zellen bilden gewöhnlich keine Sporen. Ähnliches ist bei *Bacillus septicus* Pasteur schon bekannt. Die ausgebildete Spore ist  $1,6 \times 1 \mu$ , die sporentragende Zelle  $3 \times 1,2 \mu$  groß.

Es gelingt sehr leicht, die Sporenkeimung zu verfolgen. Meist reißt die Sporenwand seitlich und der Keimschlauch nimmt eine zur Spore senkrechte Richtung ein, öfters reißt aber die ganze Wand ringsum auf und die heranwachsende Zelle trägt an beiden Enden die Sporenreste als kleine Häubchen.

*Bacillus oleae* färbt sich leicht mit wässerigen Anilinfarben, mit Anilinlösung nach Ehrlich, Karbolfuchsin nach Ziehl und nimmt unregelmäßig die Gramsche Färbung an. Die bei jungen Individuen häufige Kapsel läßt sich mit Ziehlschem Fuchsin und nachheriger Entfärbung in 50-proz. Alkohol ziemlich leicht differenzieren. In ganz jungen Kulturen sind nur an beiden Enden färbbare Zellen sehr häufig; sie verschwinden nach dem 4. Tage.

Um die Geißeln zu färben, wendete ich eine Methode an, die im hiesigen pathologischen Institute gebräuchlich ist. Aus einer feuchten, jungen Agarkultur wird ein Stückchen in wenig steriles Wasser gebracht; hier löst sich der Agar vollständig auf und man bekommt eine homogene Bacillensuspension. Darauf legt man sorgfältig gereinigte und entfettete Deckgläschen, die man sofort wieder hebt, läßt wie gewöhnlich eintrocknen, dann 15–20 Minuten in der Wärme auf folgender Färbbeize schwimmen: Gesättigte, wässrige Alaunlösung 40 ccm, 10-proz. Tanninlösung 40 ccm, gesättigte, alkoholische Gentianaviolettlösung 8 ccm.

Es wird nachher mit Wasser abgespült. Auf diese Weise werden die Bakterienleiber tiefviolett und 8–10 Geißeln an jedem *Bacillus* hellviolett gefärbt. Geißeln tragen nur die freien oder in aus 2–3 Zellen bestehenden Ketten vereinigten Bacillen. Die angehäuften Zellen, z. B. auf der Kahlhaut, sind geißelfrei.

In Bouillon befinden sich unsere Bacillen meist zu längeren Ketten vereinigt, welche sich ineinander verflechten und kleine Büschel bilden, insbesondere auf der Oberfläche. Polar sich färbende Zellen trifft man in Bouillon nur selten. Ähnliche Bilder liefern die Zuckragarkulturen, nur sind die Zellen hier  $2,8\text{--}3,1 \times 0,8 \mu$ , in Bouillon nur  $1,8\text{--}2 \times 0,7 \mu$  groß; freie Individuen erreichen in Bouillon Dimensionen von  $3 \times 0,8 \mu$ .

Auf Bouillonagar und Chondrusgallerte bleiben die Bakterien vereinzelt, nur in 4–5 Tage alten Kulturen kann man weniggliedrige Ketten beobachten. In jungen Agarkulturen sind jene Formen häufig, die sich an beiden Zellpolen stärker färben. Solche Formen sind durchschnittlich größer als die sich homogen färbenden ( $1,5 \times 0,9 \mu$  gegen  $1,6\text{--}2,2 \times 0,6\text{--}0,8 \mu$ ).

In Milch und Stärkekleisterbouillon sehen die Bakterien wie in Bouillon, auf Kartoffelscheiben wie auf Agar aus; im letzten Falle treten aber die polar färbbaren Zellen zurück.

### III. Biologie des Oelbaumbacillus.

#### Abhängigkeit von der Außenwelt.

*Bacillus oleae* ist streng aërob, wovon man sich durch das Verhalten seiner Kolonien leicht überzeugen kann.

Das Optimum der Temperatur für das Wachstum liegt bei  $34\text{--}35^\circ$ , das Maximum bei  $41^\circ$ ; schon bei  $39^\circ$  wird aber des Wachstum beträchtlich gehemmt. Bei niedriger Temperatur neigt der *Bacillus oleae* zur Kettenbildung. Sporen werden am meisten bei  $38\text{--}39^\circ$  gebildet, wo die Anfänge der Sporenbildung nach 14 Stunden bereits sichtbar sind, nach 2 Tagen bei  $34^\circ$ .

Sporen werden überhaupt von unserem *Bacillus* unter ungünstigen Vegetationsbedingungen gebildet. So konnte ich Sporen in jungen, noch wachstumsfähigen Tuberkeln nie beobachten, wie schon oben angegeben wurde.

Damit möchte ich nicht ausschließen, daß eine Sporenbildung in älteren erschöpften Tuberkeln möglich ist.

Um die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen die Hitze zu bestimmen, wurden bei 38° mit Sporen bereicherte Bouillonkulturen im Wasserbade auf 50, 60, 70, 80, 90° resp. auf freier Flamme (Siedepunkt der angewandten Brühe 102°) je 15 Minuten erhitzt. Alle diese Behandlungen wurden von den Sporen ertragen.

Ebenso waren 4 Monate auf Deckgläschen im Dunkeln trocken gehaltene Sporen noch keimungsfähig. Die hohe Widerstandsfähigkeit dieser Sporen läßt es als wahrscheinlich annehmen, daß durch verunreinigte Baumschnittmesser eine Impfung gesunder Oelbäume in der Praxis stattfinden kann.

Uebrigens erhalten sich nach meinen Erfahrungen die Sporen in Bouillonkulturen bis 9 Monate lebendig. Die vegetativen Zellen sterben aber bald bei 60° ab.

#### Ausgeschiedene Produkte.

Es wurde schon oben angegeben, daß *Bacillus oleae* die Milch zum Gerinnen bringt und nachher wieder auflöst. Es besteht also kein Zweifel, daß unser *Bacillus* ein Labferment und eine Kasease zu erzeugen vermag. Um die Bildung der Enzyme auf eiweißfreiem Substrat zu erforschen, stellte ich Kulturversuche in völlig normalem Menschenharn an, eine Methode, die von Guinochet (9) für *Bac. diphtheriae* mit Erfolg angewandt wurde. Je 400 ccm Harn wurden wiederholt gekocht, dann mit *Bac. oleae* geimpft. Nach 24 Tagen zeigte die seit einiger Zeit trübe Flüssigkeit ein schwaches, reduzierendes Vermögen. Dann wurden die Kulturen durch Kitasato-Kerzen filtriert. Die bakterienfreie Flüssigkeit enthielt reichlich die Hellersche Probe gebende eiweißartige Stoffe, Fehlingsche Lösung blieb aber unzersetzt. Dagegen befand sich viel reduzierender Stoff in der trockenen Bakterienmasse.

Die Gegenwart einer Amylase in der von Bakterien befreiten Kulturflüssigkeit läßt sich durch Einwirkung einiger Tropfen derselben auf Stärkekleister leicht nachweisen. Uebrigens wird die Stärke vom *Bacillus* bei Züchtung auf Bouillon + Stärkekleister schnell hydrolysiert.

Auf die Bildung einer Cytase darf man bei der Betrachtung der Korrosionsbilder in der Pflanze schließen; ihre Gegenwart konnte ich aber nicht direkt feststellen.

Ferner teilt *Bac. oleae* mit *Bac. typhi* und anderen Bakterien die Fähigkeit, sein Substrat zu immunisieren. Kratzte man eine 14 Stunden alte Strichkultur auf Zuckeragar ab und sät man dem früheren Impfstriche entlang keimfähige Sporen, so bekommt man keine Entwicklung mehr. So oft ich diesen Versuch wiederholt habe, habe ich immer dasselbe negative Ergebnis erhalten, wobei es vor der Hand unverständlich bleibt, warum der *Bacillus* sonst längere Zeit sein Wachstum auf der Impfstelle fortsetzt. Es leuchtet aber ein, daß *Bac. oleae* für ihn selbst schädliche Körper ausscheidet. Setzt man einer jungen Kultur einige Tropfen einer bei längerer Kultur verflüssigten Gelatine bei, so wird das Wachstum gehemmt und die Hautbildung bedeutend erschwert; dabei sinken manche Bakterien zu Boden und nehmen ein Aussehen an, als ob sie agglutiniert wären.

Meistens verhalten sich die Kulturen neutral. Nur in einem Falle gab eine Kultur auf peptonfreier Bouillon saure Reaktion, die sich nach



erfolgter Neutralisation mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  innerhalb 8 Stunden wieder herstellte. Kulturen auf Stärkekleisterbouillon reagieren anfangs sauer.

#### IV. Schutzmittel der befallenen Oelbaumpflanze.

Gegen fremde Eindringlinge vermag sich ein Organismus auf mechanischem und auf chemischem Wege zu wehren. Die meisten Autoren schreiben den mechanischen Schutzmitteln, vor allem der Integrität lückenloser Hautgewebe, die Hauptrolle bei der Immunität der Pflanzen zu. So scheint Alfred Fischer (10) noch nicht dazu geneigt zu sein, die Immunität pflanzlicher Organismen gegen Bakterienkrankheiten anderswo als in der Kontinuität der Oberhaut zu erblicken; allerdings beweist schon der Umstand, daß er das Dasein von primären Bakteriosen bei Pflanzen überhaupt anzweifelt, daß er solche Ansichten nicht ganz vorurteilsfrei vertritt. Ich brauche auch nicht näher darzulegen, warum ein Argument Fischers, nämlich, daß keine tierpathogene Bakterie Krankheiten bei Pflanzen hervorruft, bei der engen Spezifität der Infektionen jedes Wertes entbehrt.

Kruse (11), der die Existenz mehrerer Bakterienkrankheiten bei Pflanzen annimmt, möchte auch den Hauptschutz der Pflanze auf die Integrität der Integumente schieben, leugnet aber nicht, daß der saure Zellsaft oder in einigen Fällen gerade Antikörperbildung das Wachstum eingefallener Bakterien oder die Wirkung ihrer Produkte hemmt. Er scheint aber davon nicht ganz überzeugt zu sein; er zitiert Versuche von Russell, wonach Pflanzensäfte oft vorzügliche Nährböden für Bakterien liefern, und die bereits festgestellte Tatsache, daß sich verschiedene Bakterien (*Prodigiosus*, *fluorescens*, *acidilactici*, *coli* u. s. w.), in Pflanzen injiziert, mehrere Wochen erhalten und vermehren.

Dagegen erhebt sich ja von selbst der Einwand, daß Saft aus gesunden Pflanzen zur Bakterienkultur herangezogen wurde; es könnte sich also höchstens um die Abwesenheit normal bakterizider Stoffe handeln, wie solche z. B. für das normale Blutserum bekannt sind. Wie wird sich aber der Erfolg gestalten, wenn man den Saft der befallenen Pflanze auf die befallenden Bakterien einwirken läßt? Gegen das zweite Argument Kruses gilt derselbe Einwand, denn es bleibt abzuwarten, ob die injizierten Bakterien eine Reaktion in der Pflanze überhaupt erwecken.

Daß die unversehene Stengel- und Wurzelrinde den Bakterien keinen Eingang gestattet, ist sicher anzunehmen. So habe ich bei Bepinselung von Oelbaumästchen mit virulenten Kulturen niemals eine Infektion bekommen, welche aber sehr schnell eintritt, wenn man die Bakterien durch Nadelstich einführt. Es ist überdies in unseren ölbauenden Gegenden altbekannt, daß Wunden aller Art, Insektenfraß, Hagelschlag u. s. w. am Verbreiten der Tuberkelkrankheit hervorragend beteiligt sind. Das gilt wohl auch für die Wurzeln, welche in gesundem Zustande nach Ellrodt (12) beigeimpfte Bakterien vollkommen abschließen, diese mechanische Immunität aber bei Verletzungen leicht verlieren. So dünkt es mir, daß bei Erdarbeiten in Oelbaumpflanzungen mehrere Wurzeln verletzt werden und dadurch den Bakterien freien Eintritt gewähren können.

Gilt das Gesagte für Stengel und Wurzeln, so lassen z. B. Spaltöffnungen auf Blättern und die zarte Oberhaut auf Blumenblättern schon Bakterien den Eingang zu. Ich verweise in dieser Hinsicht auf die Erfahrungen von Smith mit *Bac. amylovorus* (13), *Pseudomonas*

*Pruni, campestris*, auf die Birneninfektion durch Nektarien nach Waite (14) u. s. w. Es sind im ganzen bereits zahlreiche Fälle bekannt, wo das Eindringen von Bakterien in unverletzte Pflanzenorgane einwandfrei zu verfolgen ist.

Bezüglich des Verhaltens injizierter Bakterien möchte ich den Versuchen Kornauths (15) mit tierpathogenen Bakterien eine nur untergeordnete Bedeutung für unsere Frage zuschreiben. Viel wichtiger sind Impfversuche mit pflanzenpathogenen Bakterien, die bereits in großer Menge ausgeführt worden sind; meistens lenken aber die Autoren ihre Aufmerksamkeit mehr auf die mechanischen Schutzmittel als auf die chemische Reaktion des befallenen Organismus.

Ich gehe nun dazu über, meine diesbezüglichen Resultate bei dem Oelbaume mitzuteilen:

#### Mechanische Schutzreaktion der befallenen Oelbaumpflanze.

Bei jungen primitiven Tuberkeln geht oft, wenn das Cambium noch nicht angegriffen ist, eine Neubildung von palissadenartig angeordneten Bastzellen und -fasern im Phloëm von statten, so daß in günstigen Fällen eine mächtige Bastwand entsteht, welche das weitere Vordringen der Krankheit verhindert. Ähnliches geschieht zuweilen um rindenständige Bakterienhöhlen, die von einer neugebildeten Bast- oder Korkhülle eingeschlossen werden.

Gefäße werden nach erfolgter Infektion oberhalb und innerhalb derselben mit Thyllen möglichst verstopft.

Schließlich kann man als eine Schutzreaktion auch die Proliferation der inneren Gewebe betrachten, welche die Ausstoßung und Entfernung der verseuchten Organe nach der Peripherie hin anstrebt.

Junge Aestchen werden überhaupt viel leichter angegriffen und geben am leichtesten große Tuberkel, sei es daß die Bakterien in saftreichen Organen ein üppigeres Wachstum entfalten können, sei es daß im Wachstum begriffene Gewebe stärker reagieren.

#### Chemische Schutzreaktion der befallenen Pflanze.

Nach Antikörperbildung, welche zu einem der wichtigsten Kapitel der Tierpathogenität geworden ist, hat man in Pflanzen niemals gefahndet. Es wäre in meinem Falle der kürzeste Weg gewesen, Antikörper im Saft der befallenen Organe zu suchen. Leider aber kann man aus den dünnen Oelbaumästen keinen Saft gewinnen: Ich war daher auf die Anwendung von Zweigstücken angewiesen.

Aus der Umgebung des Tuberkels und nicht aus dem Tuberkel selbst, um Stoffwechselprodukte der Bakterien nicht mitzunehmen, wurden Stücke aus der Rinde, dem Holze und dem Marke möglichst steril herauspräpariert. Dasselbe geschah für die gesunde Pflanze. Jedes Stück kam in eine junge Glycerinbouillonkultur von *Bac. oleae* und wurde im Thermostaten neben nicht behandelten Kulturen aufgestellt. Nach etwa 40 Stunden hatte eine Art Agglutination der Bacillen schon begonnen, und zwar nur in den Gläschen, welche Rindenstücke (mit Phloëm) aus kranken Zweigen erhalten hatten. Kulturen mit Bruchteilen gesunder Pflanzen waren ebenso gleichmäßig trüb geblieben wie die Originalkulturen.

Später habe ich durch 48-stündiges Liegenlassen der Rindenstücke in Wasser einen Auszug der fraglichen Stoffe erhalten, der durch halbstündiges, in vier aufeinanderfolgenden Tagen wiederholtes Erwärmen auf 55°

pasteurisiert wurde. Unter der Einwirkung eines solchen Extraktes aus kranken Organen fängt die Agglutination des *Bac. oleae* in 18 Stunden schon an und schreitet bedeutend kräftiger als bei Anwendung der Pflanzenstücke, offenbar infolge der langsamen Diffusion aus den Zellen, fort.

Im hängenden Tropfen konnte ich den Vorgang leicht verfolgen. Zur Glycerinbouillonkultur wurde Extrakt aus kranker (A) bzw. gesunder (B) Rinde zugesetzt. Nach 4 Stunden hatten die Bakterien ihre Bewegung bei A, nicht aber bei B eingestellt, und die Färbung nach Ziehl zeigte vollkommen normale isolierte Bakterien bei B, dagegen in unregelmäßigen Klumpen angehäuften, größtenteils körnig entartete oder bereits abgestorbene, schlecht färbbare Bakterien bei A.

Hier möchte ich auf den Reichtum des Extraktes aus kranken Teilen an Oxydasen und reduzierenden Stoffen hinweisen. Der Auszug gesunder Organe bewahrt seine gelbweißliche Farbe, während der Auszug aus infekten Teilen sich langsam bräunt; manchmal entsteht ein weißlicher, staubiger Niederschlag, der beim Kochen verschwindet, um bei der Erkältung wieder aufzutreten. Kocht man aber das Extrakt sofort nach der Herstellung, so bleibt es dauernd klar.

Die reduzierenden Stoffe können durch Einwirkung der oben erwähnten Bakterienamylase auf die Stärke der Markgewebe entstehen oder auch von der Zersetzung der Zellwände herrühren. Das Extrakt aus gesunden Pflanzen enthält nur Spuren von reduzierenden Stoffen.

Um die bakterizide Wirkung der Extrakte aus kranken Teilen quantitativ zu verfolgen, habe ich die Nissen-Buchnersche Plattenmethode angewandt. Zu 1 Volumen Peptonbouillon wurde 1 Volumen Auszug aus kranker resp. gesunder Oelbaumrinde zugesetzt. Bei Zusatz des Extraktes aus kranken Zellen entsteht in Bouillon ein reichlicher, gelber Niederschlag, der später rötlich wird. Eine nur schwache Trübung wird vom Extrakt aus gesunder Rinde bewirkt. Nach erfolgter Aussaat einer Oese kräftiger Bakterien wurde je eine Oese entnommen und auf Peptonagar überimpft. Die Probeentnahme geschah nach 2,  $4\frac{1}{2}$ ,  $7\frac{1}{2}$ , 24 und 48 Stunden. Sämtliche Platten wurden im Thermostaten bei  $37,5^{\circ}$  aufgestellt. Die Zählung der entstandenen Kolonien erfolgte nach 20 Stunden. Ich gebe hier die Zahlen wieder:

Kultur mit Extrakt aus gesunden					kranken Teilen	
					versetzt:	
Platte sofort nach dem Zusatz gegossen:					8 Kol.	6 Kol.
" 2 Std.	"	"	"	"	48	9
" $4\frac{1}{2}$	"	"	"	"	205	47
" $7\frac{1}{2}$	"	"	"	"	5320	18
" 24	"	"	"	"	unzählige	2060
" 48	"	"	"	"	"	unzählige

Der Tabelle ist zunächst die bakterizide Wirkung des Extraktes aus kranken Organen leicht zu entnehmen. Trotzdem haben die Bakterien im weiteren Verlaufe des Versuches ihr Wachstum wieder aufgenommen. Das kann seinen Grund darin haben, daß eine nicht allzugroße Menge bakterizider Substanz, wie sie sich in einem Probierglase vorfinden kann, zur Tötung der vorhandenen Keime vollkommen verbraucht wurde. Es war also im voraus zu sehen, daß bei geringerer Aussaat eine vollständige Sterilisation der mit bakteriziden Stoffen beladenen Flüssigkeit herbeizuführen wäre. Diese Voraussetzung wurde bei Anwendung einer viel kleineren Oese verwirklicht:

Kultur mit Extrakt aus gesunden					kranken Teilen	
Platte sofort nach der Aussaat gegossen:					versetzt:	
	2	Std.	"	"	0 Kol.	2 Kol.
"	4	"	"	"	24 "	15 "
"	6	"	"	"	170 "	20 "
"	6 $\frac{1}{2}$	"	"	"	2600 "	9 "
"	8	"	"	"	4500 "	steril.

Diese Versuche wurden im Hochsommer, und zwar mit demselben Resultate, wiederholt. Uebrigens berichtet schon Neisser (16) über die auffallende Erscheinung des nachträglichen Wachstums einiger überlebender Keime in erschöpften bakteriziden Gemischen.

Die Hautbildung in Bouillonkulturen fängt bei Gegenwart des Extraktes aus kranken Oelbaumteilen erst nach 2 Tagen an oder bleibt vollständig aus, während der Zusatz eines Auszuges aus gesunden Organen überhaupt keine Veränderung in Wachstum und Form der Bakterien herbeiführt. Kurzes Kochen des kranken Extraktes vernichtet seine bakterizide ebenso wie seine agglutinierende Wirkung. Ob beide Wirkungen ein und demselben Stoffe oder zwei verschiedenen Stoffen zuzuschreiben sind, muß ich dahingestellt lassen.

Es bleibt jedenfalls sichergestellt, daß die befallenen Oelbaumrindenzellen Schutzkörper erzeugen, welchen eine agglutinierende und eine bakterizide Wirkung auf *Bac. oleae* zukommt.

Auch für manche Pilzinfektionen ist eine solche Schutzkörperbildung wahrscheinlich, denn solche Pilze (*Botrytis*, *Phytophthora* u. s. w.) sezernieren massenhaft Diastase und andere Enzyme. Ob es aber zu einer „Serumtherapie“ bei Pflanzen kommen kann, erscheint mir doch sehr fraglich; es fehlt ja in der Pflanze an einer so breiten und schnellen Zirkulationsvorrichtung, wie das Blut sie bei Tieren darstellt.

In meinem Falle scheint das bakterizide Vermögen eng lokalisiert zu bleiben; bisher fehlen mir aber darüber sichere Anhaltspunkte. Die Untersuchungen sind noch im Gange.

Beauverie (17) gelang es, junge *Begonia*-Pflanzen durch Infektion mit attenuierten *Botrytis*-Kulturen gegen virulente Formen zu immunisieren. Ähnliches berichtet Ray (18) bezüglich einer Weizeninfektion durch *Bac. putrefaciens*.

Es ist aber zu bemerken, daß es sich in solchen Fällen um sehr junge, saftreiche, von raschen Nährströmen durchsetzte Pflanzen handelte. Beim holzigen, dünnen Oelbaume liegen ja die Verhältnisse ganz anders. Daß eine erste Infektion mit *Bac. oleae* dem Oelbaume keine Immunität gegen denselben Parasiten erteilt, beweist schon der Umstand, daß jedes Jahr auf jeder Pflanze die Zahl der Tuberkel zunimmt.

Lieber möchte ich die Aufmerksamkeit der Interessenten auf die natürliche Immunität einiger Rassen lenken. So greift *Bac. oleae* nur einige zartere Kulturrassen des Oelbaumes an, während der wilde Oelbaum (*Oleastro*) überhaupt nicht befallen wird.

## V. Zusammenfassung.

1) *Bacillus oleae* ist aërob und beweglich; er besitzt mehrere Geißeln und bildet Sporen, welche zur Verbreitung der von ihm hervorgerufenen Tuberkelkrankheit des Oelbaumes wesentlich beitragen.

2) Primitive Tuberkel können Veranlassung zur Bildung metastatischer Tuberkel durch Wanderung der beweglichen Bakterien längs der Gefäße geben.

3) *Bac. oleae* scheidet massenhaft Amylase aus, welche die Stärke der Pflanze in weiter Umgebung hydrolysiert. Darauf ist aller Wahrscheinlichkeit nach die Beschädigung der Wirtspflanze zurückzuführen.

4) Die befallene Pflanze schützt sich gegen das Eindringen des Parasiten auf mechanischem und auf chemischem Wege. Es werden Bast- und Korkwände um den Infektionsherd, Thyllen in den invadierten Gefäßen gebildet.

5) Außerdem gewinnt der Saft der lebenden Zellen bis zu einer gewissen Entfernung um die Infektionsstelle kräftige lytische, agglutinierende und tötende Wirksamkeit für *Bac. oleae*. Diese Wirkungen gehen beim Kochen verloren; es handelt sich also um Antikörperbildung, wie sie bei Tieren schon längst bekannt ist.

Vorliegende Arbeit wurde im Institut für allgemeine Pathologie der kgl. Universität Pisa ausgeführt. Dem Vorstand, Herrn Prof. Dr. Guarnieri, spreche ich auch an dieser Stelle für die erteilten Ratschläge meinen verbindlichsten Dank aus.

Pisa, Mai 1905.

#### Literatur.

- 1) Arcangeli, Sopra la malattia dell' olivo detta volgarmente rognà. (Ricerche e lav. dell' Istituto Botanico di Pisa. 1886.)
- 2) Savastano, Tubercolosi, iperplasie e tumori dell' olivo. Napoli 1887.  
—, Il bacillo della tubercolosi dell' olivo. Roma 1889.
- 3) Voglino, La rognà dell' olivo u. s. w. (Annali d. Accademia d'Agricoltura. Torino 1892.)
- 4) Cavara, in Briosi e Cavara, I funghi parassiti delle piante coltivate ed utili. Ser. V. No. 101. Pavia 1890.
- 5) Prillieux, Revue gén. d. Botan. T. I. 1889. p. 293.
- 6) Vuillemin, Bull. Soc. mycol. d. France. T. XIII. 1897. p. 44.
- 7) Smith, A bacterial disease of the tomato. Washington 1896.  
—, Die Ursachen des Verwelkens verschiedener Cucurbitaceen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895.)
- 8) Brizi, Bacteriosi del Sedano. (Rendiconti d. Accademia dei Lincei. 1897.)
- 9) Guinochet, Arch. d. médec. expér. T. IV. 1892. p. 494.
- 10) Fischer, Alfr., Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. 1903. p. 278—279.
- 11) Kruse, in Flügges Handbuch der Mikroorganismen. 3. Aufl. 1901. Bd. I. p. 418.
- 12) Ellrodt, Ueber das Eindringen von Bakterien in Pflanzen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 639.)
- 13) Smith, Observations on a hitherto unreported bacterial disease u. s. w. (Science. N. S. Vol. XVIII. 1903. p. 496.)  
—, Wisconsin Experiment Station. 1902.
- 14) Waite, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1897.
- 15) Kornauth, Ueber das Verhalten pathogener Bakterien in lebenden Pflanzengeweben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XIX. 1896.)
- 16) Neisser, Die Methodik des baktericiden Reagenzglasversuches, in Ehrliche Arbeiten zur Immunitätsforschung.
- 17) Beauverie, Essai d'immunisation des végétaux contre les maladies cryptogamiques. (Comptes rendus. 1901. Juni.)
- 18) Ray, Les maladies cryptogamiques des végétaux. (Rev. génér. d. Botan. 1901. p. 145.)

*Nachdruck verboten.*

## Histologische und chemische Untersuchungen über die Zersetzung der Pflanzen<sup>1)</sup>.

Von

Prof. Dr. **Giacomo Rossi**, und Dr. **Sante de Grazia**,

Direktor

Assistenten

des landw. bakter. Laboratoriums der Königl. Landw. Hochschule in Portici (Neapel).

Mit 1 Tafel.

In der ersten Arbeit<sup>2)</sup> über die Zersetzung lebender Pflanzenteile durch Mikroorganismen mußte der eine von uns die chemische Frage unerörtert lassen, besonders, ob die angewandten Mikroorganismen lieber den Zellstoff oder die Pektinkörper der Zellwand, eventuell auch die Stärke angreifen.

Späterhin<sup>3)</sup> begegnete der eine von uns in *Bacillus Comesi* einem Organismus, der lebendige, in sterilem Wasser untergetauchte Stengel, z. B. von *Medicago lupulina*, vollständig zu mazerieren vermag, indem nur die sklerenchymatischen Elemente zuletzt unversehrt bleiben. In unserer jüngsten Arbeit auf diesem Gebiete<sup>4)</sup>, die wir in Verbindung mit Herrn Dr. de Capraris ausführten, konnten wir feststellen, daß lebendige, in Wasser getauchte Erbsenpflänzchen von einem *Bac. similcoli* nicht im geringsten angegriffen, von *B. (mesentericus) vulgatus* nur erweicht, von *B. Comesi* total mazeriert werden, so daß nur die sklerenchymatischen Elemente übrig bleiben. Wir konnten aber ebensowenig wie Omeliansky<sup>5)</sup> durch Phenolsafranin nach Mangin<sup>6)</sup> feststellen, ob in nebenher erprobten Kartoffelstücken *B. Comesi* nur die intercellularen Pektinstoffe oder auch die Zellwände selbst aufgelöst hatte.

Nun haben wir diese Frage wieder in Angriff genommen in der weiteren Absicht, der Kenntnis der dabei entstehenden Produkte näherzutreten.

### I.

In einer ersten Versuchsreihe ließen wir mit Sublimat und sterilem Wasser abgespülte<sup>7)</sup> Blättchen von *Medicago sativa* in steriler Bouillon, teils mit *B. Comesi* geimpft, 15 Tage im Thermostaten bei 34° C verweilen. Nach dieser Behandlung war die Cuticula auf den Blattflächen vollkommen abgehoben und frei geworden. Die einzelnen Blattzellen lagen ebenfalls voneinander getrennt, so daß der geringste Druck oder Stoß genügte, um sie voneinander zu entfernen.

Daraufhin wurde das Material mit Sublimat fixiert, dann in üblicher Weise auf dem Mikrotome präpariert und mit Phenolsafranin gefärbt. Durch *B. Comesi* mazerierte Gewebe pflegen die Farbe viel langsamer aufzunehmen als die unangegriffenen Kontrollstücke. Auch krümmt

1) Uebersetzt von Dr. E. Pantanelli, Rom.

2) Rossi, G., Primo contributo a lo studio della decomposizione di frammenti ricavati da organi vegetali viventi. (Annali d. Scuola Sup. di Portici. Vol. V. 1903.)

3) Rossi, G., Secondo contributo a lo studio della macerazione della canapa. (Annali d. Scuola Sup. di Portici. Vol. V. 1903.)

4) Rossi, G., de Grazia, S. e de Capraris, T., Contributo a lo studio della decomposizione dei vegetali. (Arch. d. Farmacol. sperim. Vol. III. 1904.)

5) Dieses Centralbl. Bd. XII. 1904. No. 2. p. 38.

6) Journ. d. Botanique. T. VI. 1897; vergl. Haumann, Ann. Inst. Pasteur. T. XVI. 1903. p. 379.

7) Vergl. unsere letztgenannte Arbeit. p. 4.

sich das ganze Blatt bei der Paraffineinbettung, wenn *B. Comesii* darauf eingewirkt hat.

Die Betrachtung dieser Mikrotomschnitte und der davon entworfenen mikrophotographischen Aufnahmen (Fig. 1 und 2) läßt ohne Mühe erkennen, daß die Abspülung mit Sublimat keine Folge hat oder höchstens Absterben einiger Elemente um die Hauptadern bewirkt.

Die Cuticula hebt sich vom unter der Einwirkung von *B. Comesii* mazerierten Blättchen derart ab, daß die Zellen der unmittelbar angrenzenden Epidermis in ihrem äußeren Teile zerrissen werden und die Fetzen ihrer Außenwand der Cuticula angehängt bleiben. Die übrigen Parenchymzellen behalten noch ihren Zusammenhang; die Mittellamelle ist aber schon gelöst.

Es kann also keinem Zweifel unterliegen, daß *B. Comesii* nicht nur die Pektinstoffe, sondern auch die Cellulose angreift<sup>1)</sup>.

## II.

Nach diesen orientierenden Feststellungen haben wir versucht, die chemischen Veränderungen der Zellwände unter der Einwirkung einiger Mikroorganismen quantitativ zu verfolgen. In neuerer Zeit hat Omeliansky diese Frage in Angriff genommen (l. c.). Wir haben den von ihm angebahnten Weg den Hauptzügen nach eingeschlagen, doch mit einigen Abänderungen.

Je 14–23 g der getrockneten, in 8 cm lange Stücke geteilten Hanfstengel wurden in fünf weiten Kolben mit Leitungswasser übergossen und im Dampfdrucktopf sterilisiert. Sodann wurde je ein Kolben mit *B. coli* (*similcoli*), *B. (mesentericus) vulgatus* (Flügge) Migula und *B. Comesii* Rossi, der vierte Kolben mit einem Tropfen Flüssigkeit des im Freien mazerierenden Hanfgutes geimpft, der fünfte als Kontrolle steril überlassen. Nach 22-tägigem Aufenthalt im Thermostaten bei 34° C wurden die Proben getrocknet, gewogen und darin Cellulose und Pektinstoffe nach dem von Omeliansky selbst benutzten Verfahren bestimmt<sup>2)</sup> (siehe Tabelle I).

Tabelle I.

Nummer	Agens	Bestimmung des Gewichtsverlustes					Wassergehalt des zuerst an der Luft bei Gegenwart von Chloroform, dann bei 100° getrockneten Hanfes	Cellulosebestimmung			Pektiubestimmung		
		Benutzte feuchte Substanz	Entsprechend trockene Substanz	Trockensubstanz nach der Mazeration	Trockensubstanz in Proz.	Vom Agens bedingter Verlust		Trockensubstanz, 3 g entsprechend	In 3 g feuchter Substanz gefundene Cellulose	Cellulose, in Proz. der bei 100° getrockneten Proben	Trockensubstanz, 5 g entsprechend	In 5 g feuchter Substanz gefundene Pektinstoffe	Pektinstoffe, in Proz. der bei 100° getrockneten Proben
1	<i>B. coli</i>	18,3785	16,5932	16,1922	2,42	1,14	6,72	2,7984	0,8755	31,2	4,66	0,0113	0,24
2	<i>B. Comesii</i>	23,8977	21,5762	19,6838	8,78	7,50	9,20	2,7240	0,8809	32,3	4,54	0,0064	0,14
3	Nat. Röste	17,7602	16,0349	14,9296	6,90	5,62	9,67	2,7099	0,8657	31,9	4,52	0,0089	0,19
4	Kontrolle	17,3438	15,6590	15,4598	1,28	—	8,59	2,7423	0,7838	28,5	4,58	0,0090	0,19
5	<i>B. mesentericus</i>	14,2924	12,9040	12,3860	4,02	2,74	9,84	2,7048	0,9964	36,8	4,51	0,0167	0,37

1) Wir konnten bisher kein weiteres und besseres Material finden, außer der genannten *Medicago*. Die größten Schwierigkeiten werden bei derartigen Untersuchungen von der Art der Sterilisation bereitet.

2) Wir hätten lieber bessere Bestimmungsmethoden angewandt, wäre es uns nicht darauf angekommen, nur relative, untereinander vergleichbare Werte zu erhalten.



Wir sehen zunächst, daß

1) die Dampfsterilisation und der nachfolgende Aufenthalt im Thermostaten einen größeren Verlust an Trockensubstanz des Hanfes als bei der freien Röste bedingt<sup>1)</sup>. Es ist also nicht unbeschränkt geboten, die Vorgänge bei der Mazeration dampfsterilisierten Hanfes mit der natürlichen Röste zu vergleichen.

2) Der Verlust an Trockengewicht hängt von dem einwirkenden Organismus ab und kann bei Anwendung von Reinkulturen eines einzigen Mikrobiums sogar höher ausfallen als bei gemischter Einwirkung verschiedener Bakterien.

3) *B. Comesii* hat sich als der kräftigste Mazerator erwiesen. Bezüglich der Cellulose fällt es sofort auf, daß der Cellulosegehalt in den durch Bakterien mazerierten Proben größer als bei der Kontrolle ausfiel. Es wäre nun denkbar, einerseits, daß die Mikroben nicht celluloseartige Stoffe dermaßen zersetzt haben, daß der relative Cellulosegehalt gesteigert erscheint, andererseits, daß einige Stoffe in Cellulose umgewandelt worden sind. Um diesen Punkt aufzuklären, brauchen wir nur den absoluten Cellulosegehalt der Kontrolle zu berechnen<sup>2)</sup> und auf diesen den der übrigen Proben<sup>3)</sup> zu beziehen. Wir erhalten folgende Werte:

Tabelle II.

Agens	Cellulose in der ganzen Probe enthalten	
	vor der Mazeration	nach der Mazeration
<i>B. coli</i>	4,71	5,06
" <i>Comesii</i>	6,13	6,36
Nat. Röste	4,55	4,76
Kontrolle		4,41
<i>B. mesentericus</i>	3,66	4,56

Die gleiche Berechnung führen wir für die Pektinstoffe aus und finden:

Tabelle III.

Agens	Pektinstoffe in der ganzen Probe enthalten	
	vor der Mazeration	nach der Mazeration
<i>B. coli</i>	0,0321	0,0392
" <i>Comesii</i>	0,0417	0,0277
Nat. Röste	0,0310	0,0293
Kontrolle		0,0303
<i>B. mesentericus</i>	0,0249	0,0458

1) Der Verlust an Trockengewicht bei der natürlichen Hanfröste beläuft sich nach Rossi auf ca. 12 (11,983) Proz. (Primo Contributo etc. 1903. p. 276.)

2) Die Berechnung gestaltet sich folgendermaßen (siehe Tabelle I):

$$\frac{0,7838 \times 15,4578}{2,7423} = 4,415.$$

Diese Zahl drückt den Cellulosegehalt der ganzen Kontrollprobe aus. Danach:

$$\frac{4,415 \times 16,5932}{15,6590} = 4,71.$$

3) Für die mit *B. coli* angestellte Probe ist es z. B.:

$$\frac{0,8757 \times 16,1922}{2,7984} = 5,06$$

der Cellulosegehalt in der ganzen Hanfportion.





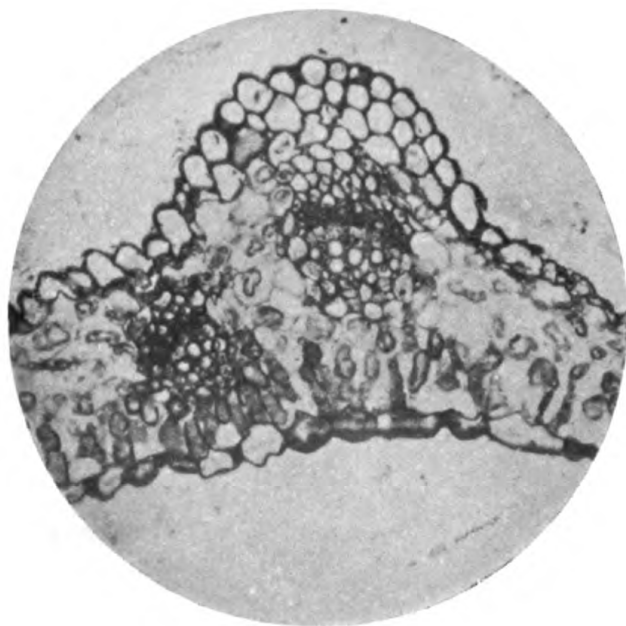


Fig. 1.

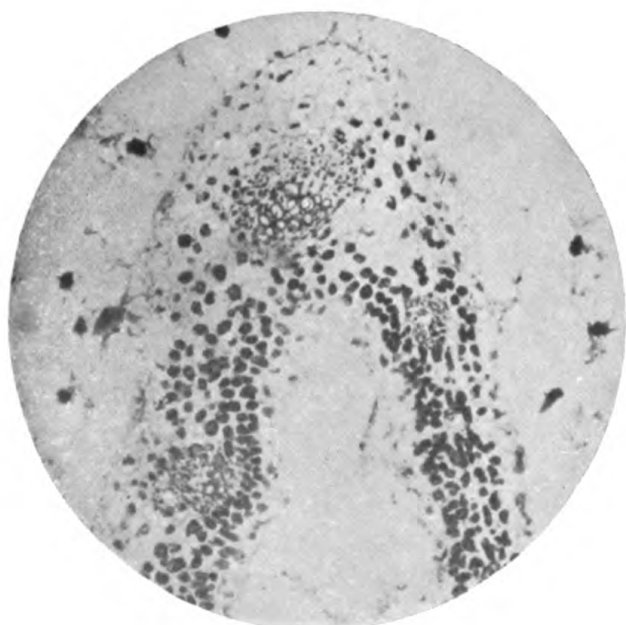


Fig. 2.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Es ergibt sich, daß die zweite Hypothese die richtige ist: Es findet eine Celluloseanreicherung statt. Die Pektinstoffe nehmen aber auch zu, mit Ausnahme der Probe mit *B. Comesii*, der dem natürlich auströstenden Bakteriengemische am ähnlichsten einwirkt; bei seiner Anwesenheit verschwanden beinahe  $\frac{3}{5}$  der ursprünglich vorhandenen Pektinstoffe.

Portici, Mai 1905.

#### Tafelerklärung.

Querschnitte aus Blättchen von *Medicago sativa*. Fig. 1 steril, Fig. 2 bei Gegenwart von *B. Comesii* mazeriertes Blatt. Nach der Behandlung mit Sublimat fixiert, in Paraffin eingebettet und mit wässerigem 1-proz. Phenolsafranin gefärbt. Objektiv Leubert 5, Okular 3.

*Nachdruck verboten.*

## Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes durch Mikroorganismen <sup>1)</sup>.

[Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Literatur.]

Von Dr. J. Vogel, Posen.

(Schluß.)

Von verschiedenen Seiten ist darauf hingewiesen worden, daß die Knöllchenbakterien erst dann in Aktion treten, wenn den Leguminosen Stickstoff in gebundener Form nicht zur Verfügung steht. So sagt z. B. Paul Wagner (102) gelegentlich eines im April 1902 gehaltenen Vortrages: „Sobald die Schmetterlingsblütler sich anderweit Stickstoff beschaffen können, geben sich die stickstoffsammelnden Bakterien der Ruhe hin. Nur wenn Not da ist, nur wenn Hunger nach Stickstoff eintritt, fangen sie an zu arbeiten“. Ich habe bereits erwähnt, daß Hiltner und Störmer (91) bei ihren Untersuchungen über die Plasmadifferenzierung in den Knöllchen eine experimentell begründete Erklärung für diese Erscheinung gegeben haben. Remy (99) weist darauf hin, daß der in gebundener Form dargebotene Stickstoff auf einige Leguminosen (Erbsen, Pferdebohnen) günstig, auf andere (Lupinen) ungünstig einwirkt, daß also hier deutliche Artverschiedenheiten der Hülsenfrüchte hervortreten. Nobbe und Richter (103) konnten weitere Beweise dafür erbringen, daß ein einigermaßen erheblicher Gehalt des Bodens an Nitrat- und an Humusstickstoff die Funktion der Knöllchen in hohem Grade schädigt. Der leicht lösliche Salpeterstickstoff beeinträchtigte die Tätigkeit der Knöllchen weit stärker, als der Stickstoff der Humussubstanzen. Sehr kleine Mengen desselben haben sich sogar bei diesen und zahlreichen früheren Versuchen als vorteilhaft erwiesen. Später haben diese Autoren (104) abermals auf Grund eingehender Versuche die Tatsache bestätigen können, daß der Grad der Impfwirkung mit zunehmendem Bodenstickstoff abnimmt. Bei einer Versuchsreihe mit Zottelwicken betrug beispielsweise der Mehrertrag an Trockensubstanz lediglich durch die Impfung 86,07 Proz. der Gesamternte, in den mit 500 mg Nitratstickstoff gedüngten Gefäßen stellte sich dagegen der auf die Bakterientätigkeit zurückzuführende Mehrertrag nur auf 54,16 Proz. und bei Düngung mit 1000 mg Stickstoff nur auf 43,71 Proz. der Ge-

1) Siehe Jacobitz, diese Zeitschr. Bd. VII. 1901. p. 783.

samternte. Die Bakterienzufuhr allein hatte bei den ungedüngten Gefäßen eine Ertragserhöhung gegenüber ungeimpft von 618 Proz. hervorgebracht. Dieser Mehrertrag wurde durch Zugabe von 500 mg Stickstoff neben der Impfung nur noch um 15,1 Proz. und durch weitere 500 mg Stickstoff nur um abermalige 13,4 Proz. gesteigert. Nach Versuchen von Marchal (105) verhinderten selbst sehr geringe Mengen von Nitraten und Ammoniaksalzen in Wasserkulturen von Erbsen die Bildung von Knöllchen. Calcium- und Magnesiumsalze, sowie Phosphorsäure wirkten dagegen günstig auf die Knöllchenbildung ein.

Wohltmann (106) hat bei Gefäßversuchen mit Erbsen in überzeugender Weise feststellen können, daß die Knöllchenbakterien in allen Bodenarten der gewöhnlichen Art bei Anwesenheit von leicht assimilierbarem Stickstoff (Ammoniumnitrat) nicht in Tätigkeit treten. In diesen Fällen verschmähen die Hülsenfrüchte den unentgeltlichen Luftstickstoff und greifen auf den gebundenen Stickstoff des Bodens zurück, wirken also nicht stickstoffbereichernd, sondern stickstoffzehrend. Die Gründüngung mit Leguminosen ist also nur dann mit einem Stickstoffgewinn verbunden, wenn den Pflanzen aufnehmbarer Stickstoff im Boden fehlt. Der Wert einer Gründüngung sollte demnach stets nach der Zahl und Größe der Wurzelknöllchen beurteilt werden. Der natürliche Stickstoffgehalt der Böden übte dagegen keine hervortretende Einwirkung auf das Vorhandensein und die Wirkung der Knöllchenbakterien aus. Es zeigte sich z. B., daß ein an Stickstoff reicher Basaltboden zahlreiche wirksame Bakterien beherbergte, während sich in einem stickstoffarmen alluvialen Sandboden nur wenige vorfanden. Der Humusgehalt der Böden wirkt günstig auf die Entwicklung der Knöllchenbakterien ein, wenn er nicht, wie bei rohem Hochmoor, zu besonderer Höhe ansteigt.

Der Hiltnerschen Auffassung, daß der Salpeter direkt schädigend auf die Knöllchenbakterien einwirkt, tritt Süchting (94) entgegen. Er schließt sich der von Remy vertretenen Anschauung an, daß die Pflanze durch den leicht aufnehmbaren Stickstoff des Salpeters in ihrer Ernährung so günstig gestellt wird, daß nur hochwirksame Bakterien dieselbe zu infizieren vermögen, so daß es in solchem Falle nur zu einer beschränkten Knöllchenbildung kommt. Moore (107) machte die Beobachtung, daß die Entwicklung der Knöllchenbakterien auf stickstoffreichen Nährmedien mit einer starken Abnahme der Wirksamkeit verbunden ist. Bei umfangreichen Feldversuchen waren Bakterien, die auf stickstofffreien Substraten fortgezüchtet worden waren den auf stickstoffreichen Nährböden gewachsenen an knöllchenbildender Kraft weit überlegen.

Daß eine erfolgreiche Impfung zu Hülsenfrüchten eine günstige Nachwirkung auf andere Kulturgewächse auszuüben vermag, folgt aus Versuchen von Nobbe und Richter (108). Die höheren Erträge der auf die Hülsenfrucht folgenden Halmfrucht erklären sich in einfacher Weise aus dem höheren Gehalt der erfolgreich geimpften Erden an Wurzelstickstoff der Leguminosen.

Neuerdings hat Hiltner (35) für die zahlreichen Fälle der Praxis, in welchen die Knöllchenwirkung durch den Bodenstickstoff keine nachteilige Beeinflussung erfährt, eine interessante Erklärung gegeben. Er sagt darüber: „Die an den Boden wirklich angepaßten Leguminosenpflanzen können außer mit den in ihre Wurzeln eindringenden Knöllchenbakterien noch in nähere Beziehung zu Bakterien treten, die außerhalb ihrer Wurzeln im Boden leben, denen hauptsächlich die Fähigkeit zu-

kommt, den löslichen Bodenstickstoff in eine unlösliche, von den Pflanzen zunächst nicht aufnehmbare, aber wieder leicht zersetzbare Form überzuführen. Durch diese Festlegung können nicht nur die Leguminosenpflanzen ungehindert aus ihren Knöllchen Vorteil ziehen, sondern es wird auch den im Boden freilebenden stickstoffsammelnden Bakterien, die nach allen bisherigen Beobachtungen durch Salpeter oder andere, von höheren Pflanzen aufnehmbare Stickstoffformen ebenfalls in ihrer Tätigkeit beschränkt werden, den freien Stickstoff aufzunehmen, innerhalb der Einflußsphäre der Wurzeln, oder innerhalb der ‚Rhizosphäre‘, wie ich mich künftig ausdrücken will, die Möglichkeit geschaffen, ihre nützliche Tätigkeit zu entfalten, und erst dadurch, und keineswegs durch die Knöllchenwirkung allein, läßt es sich erklären, warum die Leguminosen den Boden mit Stickstoff anreichern, der der Nachfrucht zugute kommt.“ Aus dieser Annahme, welche Hiltner durch weitere Versuche zu stützen gedenkt, ergibt sich eine ganz neue Deutung für die günstige Nachwirkung der Leguminosen auf andere Pflanzenarten, auch wenn die oberirdischen Teile der Hülsenfrüchte nicht als Gründünger untergebracht sind, und für die Tatsache, daß zwischen Leguminosen wachsende Nichtleguminosen von ersteren Vorteile erlangen können.

Von Seelhorst, Freckmann und Bünger (109) haben gelbe, blaue und rote Lupinen unter verschiedenen Bedingungen in Vegetationsgefäßen kultiviert und konnten feststellen, daß die höchsten Ernten in den am feuchtesten gehaltenen Erden (84 Proz. der wasserhaltenden Kraft) erzielt wurden. Auch die Stickstofferträge stiegen mit erhöhter Bodenfeuchtigkeit beträchtlich und waren beim höchsten Wassergehalt des Bodens etwa 3mal höher als beim geringsten (45 Proz.).

Von wesentlicher Bedeutung für die Stickstoffsammlung durch Leguminosen ist die entsprechende Versorgung derselben mit mineralischen Nährsalzen. Salfeld (110) hatte früher beobachtet, daß Düngung mit Mergel günstig, solche mit Aetzkalk ungünstig auf die Leguminosen einwirkt. Da sich die Vermutung, der Aetzkalk könne abtötend auf die Knöllchenbakterien gewirkt haben, nicht bestätigte, so führt Salfeld diese eigenartige Wirkung entweder auf eine durch den Aetzkalk hervorgerufene starke Verarmung des Bodens an assimilierbarem Stickstoff zurück, oder auch darauf, daß mit dem Mergel wirksame Bakterien in den Boden gelangten, mit dem Kalk jedoch nicht. Auch Hiltner und Störmer (91) teilen einen Versuch mit, wo zweifellos eine schädigende Einwirkung des Aetzkalks auf die Knöllchenbakterien zu Tage trat, und raten daher, die Kalkung mit Aetzkalk nicht unmittelbar vor der Impfung auszuführen oder kohlensauren Kalk anzuwenden. Laurent (111) machte bei Freilandversuchen die Beobachtung, daß Erbsen bei mehrmaligem Anbau auf Boden, welcher mit Stickstoffsalzen und Kochsalz gedüngt war, schon im zweiten Jahre keine Knöllchen mehr bildeten, während Kali- und Phosphorsäuredüngung die Entstehung der Wurzelknöllchen in den folgenden Anbaujahren deutlich begünstigte. Auf den mit Kalk gedüngten Parzellen verminderten sich die Knöllchen der Zahl nach, dagegen nahmen sie an Dimensionen zu. Da sich andere Leguminosen gegenüber den genannten Düngungen nicht wie die Erbsen verhielten, so führt Laurent die erwähnten Vorgänge auf eine verschiedene Empfindlichkeit der Pflanzen selbst gegen die Salze des Bodens, nicht auf eine Beeinflussung der Bakterien zurück. Diese Ansicht stimmt mit der von Remy (99) geäußerten überein. Eine außerordentlich günstige Wirkung der Kaliphosphatdüngung auf die Entwicklung der

Knöllchenbakterien in den verschiedensten Bodenarten konnte Wohltmann (106) bei umfangreichen Gefäßversuchen mit Erbsen konstatieren. Auch in Böden, welche ohne Düngung nur spärliche Knöllchen bei den Versuchspflanzen hervorbrachten, traten nach der Mineraldüngung überaus zahlreiche Knöllchen auf. Wohltmann hält es daher für unerlässlich, den Leguminosen Kali, Phosphorsäure und Kalk unter den Fuß zu geben, damit sie den Luftstickstoff reichlicher ausnutzen.

Nach Schulze (112) ist die *Serradella* gegen Kalk sehr empfindlich. Sie ist daher nur auf kalkarmen Böden eine sichere Pflanze, auf etwas kalkreicheren nur dann, wenn diese Böden eine große Aufnahmefähigkeit für Feuchtigkeit besitzen, wie beispielsweise die Moorböden. Aus dem sehr verschiedenen Verhalten der einzelnen Hülsenfrüchte gegen Kalk schließt Schulze auch auf Unterschiede im Verhalten der diesen Leguminosen angepaßten Knöllchenbakterien gegen den Kalkgehalt des Bodens. So scheinen z. B. die Klee- und Lupinenbakterien das den *Serradella*- und auch Lupinenbakterien etwa entgegengesetzte Verhalten zu zeigen, sie entwickeln sich in kalkreichen Böden sehr gut und führen da zu reichlicher Knöllchenbildung. Bachmann (113) kommt auf Grund von Versuchen, welche er mit Pferdebohnen, Lupinen und Erbsen ausführte, zu dem Resultat, daß die Zufuhr von Phosphorsäure, Kali und auch Kalk unbedingt erforderlich ist. Eine schwache Stickstoffdüngung bei der Saat kann auf stickstoffarmen Böden zuweilen günstig wirken und die jungen Pflanzen zur Assimilation des freien Stickstoffs befähigt machen. Eine spätere Stickstoffdüngung (Kopfdüngung) ist nicht zu empfehlen. Bei diesen Versuchen wirkte Kalk in Gemeinschaft mit den anderen mineralischen Nährstoffen und bei genügender Feuchtigkeit auf sämtliche Leguminosen, Lupinen inbegriffen, günstig. Er schien der Entwicklung der Knöllchenbakterien günstig zu sein.

Zur Frage der Artenheit der Leguminosenbakterien liegen verschiedene, zum Teil mit der bisher üblichen Ansicht im Widerspruch stehende Meinungsäußerungen vor.

Jacobitz (45) steht auf dem durch die früheren Untersuchungen von Nobbe und Hiltner begründeten Standpunkt, daß alle Leguminosenbakterien Varietäten ein und derselben Art, des *Bac. radicola*, darstellen. Bei umfangreichen Arbeiten ist auch Buhlert (97) zu der Ueberzeugung gekommen, daß die Knöllchenbakterien als Repräsentanten ein und derselben Art anzusehen seien. Er gibt eine ausführliche Uebersicht über den Stand der ganzen Frage, bespricht besonders eingehend die wichtigsten Untersuchungen Nobbe und Hiltners über die Ueberführung der an eine bestimmte Leguminose angepaßten Bakterien in „Kreuzungsbakterien“ und deren weitere Anpassung an eine andere Hülsenfrucht und berichtet dann über eigene hierher gehörige Versuche. Ich will nicht näher auf dieselben eingehen, da Hiltner seinen Standpunkt in dieser Frage inzwischen geändert hat, daher auch die Buhlertschen Ergebnisse nicht mehr als den jetzigen Anschauungen entsprechend angesehen werden können, besonders da er seine Versuche mit Knöllchenbakterien ausführte, die auch nach Hiltners jetziger Ansicht tatsächlich zu ein und derselben Gruppe gehören. Bezüglich der Versuchsanordnung, bei welcher mit größter peinlichkeit jede Fremdinfection vermieden wurde, bringt Buhlert jedoch für jeden mit solchen Arbeiten Beschäftigten viel Wertvolles und Beachtenswertes. Durch Reinkulturen der Bakterien von *Vicia Faba*, *Pis. sat.* und — allerdings nur in einem Falle — *Phaseolus vulg.* konnten mit Sicherheit bei Erbsen

und Bohnen Knöllchen erzeugt werden, mit *A c a c i a* - Bakterien gelang dies jedoch nicht. Buhlert nimmt jedoch an, daß die hier hervorgetretene Wirkungslosigkeit keine absolute, sondern nur eine „zeitliche“, durch die verhältnismäßig entfernte Stellung der Pflanzen im System bedingte sei. Er hält daher daran fest, daß die Bakterien sämtlicher Leguminosen einer Art angehören. Bei späteren Untersuchungen prüfte Buhlert (114) das Verhalten der Bakterien von *Vicia sativa* und von Kreuzungsbakterien (erhalten aus Bohnenknöllchen, die durch Erbsenbakterien hervorgerufen waren) auf knöllchenbildende Kraft gegenüber Lupinen, Erbsen, Wicken und Bohnen. Bei den 3 zuletzt genannten Hülsenfrüchten sind durch beide Bakterienstämme Knöllchen hervorgebracht worden, in keinem einzigen Falle jedoch bei der Lupine. Buhlert schließt aus diesem Befund nicht auf eine Artverschiedenheit der Knöllchenbakterien, sondern nur, daß die verwendeten Bakterien den Lupinen zu wenig angepaßt waren. Auch Remy (88) hat sich dahin geäußert, daß die meisten bestehenden Modifikationen des Knöllchenbakteriums als Anpassungsformen einer Art zu bezeichnen sind. Gut wirksame Impfbakterien müssen also der betreffenden Leguminose gut angepaßt und außerdem möglichst „virulent“ sein.

Den wichtigsten Beitrag zu dieser Frage haben in neuerer Zeit Hiltner und Störmer (91) gebracht, indem sie die bisher fast allgemein geteilte Auffassung von der Arteinheit der Knöllchenbakterien fallen ließen und dieselben in zwei ziemlich scharf getrennte Gruppen schieden. „Nur innerhalb jeder dieser beiden Gruppen können sich Anpassungsformen ausbilden. Zu der einen Gruppe gehören die Bakterien von *Pisum*, *Vicia*, *Lathyrus*, *Phaseolus*, *Trifolium*, *Medicago*, *Anthyllis*, *Onobrychis*, *Robinia*, zur zweiten jene von *Lupinus*, *Ornithopus*, Soja (*Genista*? *Sarothamnus*?)“. Die Verfasser kommen zu dieser Differenzierung auf Grund des verschiedenen morphologischen Verhaltens der in traubenzuckerhaltigen Nährlösungen entstehenden Bakteroiden, des verschiedenen Ausnutzungsvermögens gewisser Kohlenhydrate und Stickstoffverbindungen durch die Angehörigen der beiden Gruppen, und der sehr verschiedenen Wachstumsenergie auf gewissen gelatinösen, näher beschriebenen Nährböden. Während die Bakterien der ersten Gruppe ausgezeichnet auf diesen gedeihen, wachsen auf ihnen Lupinen-, Soja- und *Serradella*bakterien nur sehr kümmerlich. Die diesen letzteren angepaßten Knöllchenbakterien werden als *Rhizobium Beijerinckii* von dem gelatinewüchsigen *Rhizobium radicicola* unterschieden. Die Verfasser verfügen auch bereits über Beobachtungen, aus welchen die Anpassungsfähigkeit von Knöllchenbakterien der einzelnen Gruppen an Leguminosen ihrer Gruppe, nicht aber an solche der anderen, hervorgeht. Lupinenbakterien hatten z. B. durch zweimaligen Sojaanbau in ihrer Fähigkeit, bei Lupinen Knöllchen zu bilden, stark gelitten, gleichzeitig in dem Boden enthaltene Erbsenbakterien blieben jedoch ganz unbeeinflusst. An den entgegenstehenden Ansichten anderer Forscher, besonders an den Mitteilungen von Mazé (*Annales de l'Inst. Pasteur*. 1896) üben Hiltner und Störmer, gestützt auf ihr reiches Material, eingehende Kritik.

In Uebereinstimmung mit Hiltner befindet sich Stutzer (92), welcher eine weitgehende Aehnlichkeit der Bakteroiden und Stäbchen von *Lupinus*, *Ornithopus* und Soja in künstlichen Nährmedien beobachtete und daher diese Organismen als zu einer Gruppe gehörig betrachtet.

Heinze (Referat über Schulze (112), Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. p. 665) schließt sich der neuen Hiltnerschen Auffassung von dem Vorhandensein zweier scharf getrennter Gruppen von Knöllchenbakterien nicht an. Er meint, daß es sich nur um Rasseneigentümlichkeiten, also Varietäten ein und derselben Art handelt und hält daher an der Arteinheit aller Leguminosenbakterien fest. Süchting (94) glaubt, daß das von Hiltner bisher beigebrachte Material noch nicht für die Zulässigkeit einer Scheidung der Knöllchenbakterien in zwei Gruppen ausreicht.

Von Moore (107) ist die Frage der Arteinheit der Leguminosen ebenfalls eingehender studiert worden. Die Bakterien von *Pisum sativum*, welche während 2 Wochen auf stickstofffreien Medien gewachsen waren, verursachten bei allen geprüften Hülsenfrüchten, mit Ausnahme der Lupinen, Knöllchenbildung. Moore schließt hieraus, daß er nur eine einzige Art von Knöllchenbakterien, *Pseudomonas radicola* (Beijerinck), gebe. Die Unterschiede in der Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Wirtspflanzen liegen nur in geringen physiologischen Verschiedenheiten, die durch Kultur auf geeigneten stickstofffreien Nährböden zum Verschwinden gebracht werden können.

Aus den Hiltnerschen Untersuchungen ergab sich, wie oben des näheren ausgeführt wurde, eine schädigende Wirkung der Samenquellstoffe auf die Knöllchenbakterien. Ausgeschlossen konnte dieselbe werden durch richtige, bis nahe an die Keimung heranreichende Vorquellung der Samen, deren Durchführung in der Praxis jedoch kaum möglich ist. Hiltner und Störmer (91) konnten jedoch schon bei Versuchen des Jahres 1902 feststellen, daß Milch bei der direkten Samenimpfung der schädlichen Wirkung der Quellstoffe zu begegnen vermochte, und daß der Zusatz von Pepton und Traubenzucker diese vorteilhafte Wirkung noch erhöhte. Aus diesen Erfahrungen heraus entstand dann ein Impfverfahren für die Praxis (115), das die Zugabe von Pepton und Traubenzucker zu der Bakterienaufschwemmung in Wasser oder besser frischer Milch empfiehlt, und nähere Angaben über die Ausführung der Impfung und Aussaat der geimpften Samen macht. Die günstige Einwirkung von bestimmten Nährsalzen auf die Impfwirkung der Knöllchenbakterien geht auch aus Versuchen von Golding (116) hervor, welcher bei vergleichenden Vegetationsversuchen in sterilisierter Erde durch Zugabe von 5 und 10 g Rohrzucker pro Gefäß stets höhere Ernteerträge erzielte, als in zuckerfrei belassenen Gefäßen. In noch größeren Mengen angewendet wirkte der Zucker dagegen schädlich. Auch Moore (107) empfiehlt die Zugabe bestimmter Nährsalze zu den Impfkulturen.

Von verschiedenen Seiten liegen bereits Angaben über Versuche mit den nach neueren Erfahrungen hergestellten und angewendeten Impfstoffen vor. Zunächst konnte Hiltner (117) selbst auf dem internationalen Kongreß für angewandte Chemie in Berlin (2.—8. Juni 1903) Mitteilungen über einige mit dem „neuen Nitragin“ im Jahre 1902 erzielten Erfolge machen. Von den gesamten Versuchen waren rund 60 Proz. erfolgreich. Eine Impfwirkung war hervorgetreten bei Serradella in 78 Proz., Rotklee in 75 Proz., gelbe und blaue Lupine in 57 Proz., Erbsen, Wicken, Bohnen in 51 Proz. aller Versuche. Remy (33) hat mit hochwirksamen Reinkulturen erfolgreiche Impfungen zu Pferdebohnen und blauen Lupinen ausgeführt. Die Impfung war wirksam, obwohl der Boden die betreffenden Leguminosenbakterien bereits enthielt. An



anderer Stelle berichtet Remy (99) über Impfversuche mit virulenten Kulturen zu Klee, Serradella, Lupinen und Erbsen in sterilisierter Erde. Es ergab sich eine deutliche Ueberlegenheit der Reinkulturen gegenüber der Impferde. Im Interesse der Impfwirkung hält es Remy (88) für richtiger, wenn die Impfbakterien nicht schon bei der Saat, sondern erst nach der Bildung infektiösfähiger Wurzelhaare bei den aufgelaufenen Pflänzchen in Anwendung kommen. Stutzer (40) bestätigte bei Versuchen mit blauen Lupinen die Ueberlegenheit der gequollenen Samen gegenüber den direkt ausgesäten. Eine Anzahl günstiger Versuchsergebnisse sind auch in der mehrfach erwähnten Veröffentlichung von Hiltner und Störmer (91) enthalten. Später machte Hiltner (118) dann ausführlich Mitteilung von den Ergebnissen der in Bayern im Jahre 1903 ausgeführten Impfungen mit Reinkulturen. Bei den 98 ausgeführten Feldversuchen ist die Impfwirkung der Reinkulturen in 81 Fällen, also in 83 Proz. aller Fälle sicher hervorgetreten, in 8 Proz. blieb der Erfolg unentschieden, in 9 Proz. war er negativ. Die Versuche verteilen sich in folgender Weise auf die einzelnen Pflanzenarten:

	Gesamtz. d. Versuche	günstig	resultatlos	unentschieden
Serradella	23	21	1	1
Gelbe Lupinen	23	20	2	1
Gem. v. Leguminosen	15	14	—	1
Wicken	7	5	1	1
Erbsen	6	6	—	—
Blaue Lupinen	5	3	—	2
Erbsen	5	3	2	—
Rotklee	4	1	1	2
Inkarnatklee	2	2	—	—
Luzerne	2	1	1	—
Pferdebohnen	3	2	1	—
Peluschken	1	1	—	—
Sojabohne	1	1	—	—
Zottelwicke	1	1	—	—
	98	81	9	8

Hiltner bemerkt hierzu, daß sich infolge der ausgezeichneten Impfwirkung bei Lupinen und Serradella allenthalben die Absicht geltend macht, durch Anbau dieser Pflanzen unter Ausführung der Impfung sich die großen Vorteile der Gründüngung zu nutze zu machen, und es steht wohl zu erwarten, daß es dadurch gelingen wird, die in Bayern auf weiten Strecken sichtbar zum Ausdruck gelangende Stickstoffarmut des Bodens zu beheben und zugleich den Boden durch Humusanreicherung zu verbessern. In Anbetracht der geringen Kosten und der leichten Ausführbarkeit des Verfahrens hält es Hiltner unter allen Umständen für zweckmäßig, das Saatgut jeder Hülsenfrucht und Kleeart mit Reinkulturen zu impfen, um den Erfolg möglichst zu sichern. An anderer Stelle hat Hiltner (35) mitgeteilt, daß im Jahre 1903 mit von ihm gelieferten Reinkulturen in ganz Deutschland mehr als 300 Feldversuche ausgeführt wurden, die in 70 Proz. aller Fälle günstige Ergebnisse hatten. Stutzer (40) teilt aus den Erhebungen der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft über die in der großen Praxis erzielten Impferfolge mit, daß beispielsweise bei Rotklee in 75 Proz. aller Versuche ein günstiges Resultat gemeldet wurde. Ueber die im Jahre 1902 in der Oberpfalz ausgeführten Impfversuche mit Reinkulturen von Knöllchenbakterien hat Schnider (119) berichtet. Ueber die Ergebnisse kann ich nähere Angaben nicht machen, da mir die Arbeit nicht zugänglich ist.

Thiele (120) hat die Hiltnerschen hochwirksamen Reinkulturen

zur Impfung von Soja hispida auf dem Versuchsfelde in Rosenthal bei Breslau mit gutem Erfolg angewendet, obwohl er genötigt war, die weniger sichere Erdimpfung vorzunehmen.

Süchting (94) führt einen Teil der bei Leguminosenimpfung erzielten Mißerfolge auf die Anwendung zu geringer Kulturmengen zurück. Er hält die in einem Röhrchen enthaltene Kulturmasse zur Impfung der für einen Morgen bestimmten Samen im allgemeinen nicht für ausreichend.

Ueber sehr günstige Impferfolge mit Reinkulturen, welche nach besonderem Verfahren gewonnen und angewendet werden, bei Feldversuchen in Nordamerika berichtet Moore (107). Durch Anwendung von Impferde erzielte Salfeld (121) auf neu kultiviertem Hochmoor und auf mineralischem Heideboden, wo infolge der stark sauren Reaktion Knöllchenbakterien an sich fehlen, üppiges Wachstum der angebauten Hülsenfrüchte, nachdem durch eine entsprechende Düngung mit Kalk, Kali und Phosphorsäure günstige Lebensbedingungen für die Knöllchenbakterien geschaffen worden waren.

Von der Fähigkeit der Leguminosen, Stickstoff zu sammeln, zieht die praktische Landwirtschaft schon seit langem Nutzen, indem sie besonders die leichteren Bodenarten durch den Anbau solcher Pflanzen mit Stickstoff anreichert. Seit den bahnbrechenden Arbeiten von Schulz-Lupitz über die Bewirtschaftung des leichten Sandbodens wurde die Frage des Anbaues von Leguminosen zum Zwecke der Gründüngung vielfach von seiten der Wissenschaft und Praxis bearbeitet, und es sind wertvolle Aufschlüsse über die bei diesem Kulturverfahren zu beobachtenden Einzelheiten gewonnen worden. Von hierher gehörigen Arbeiten der neueren Zeit, auf welche aber hier nicht näher eingegangen werden soll, erwähne ich z. B. Fruwirth (122), Arndt (68, 123—125), Causemann (126—129), Reitmair (67), Böde (130), Haedike (131), Bässler (132, 133), Arnstadt (134), Janeba (135), Otte (136), Bongardt (137), Vibrans (138), Bannert (139), Petermann (140), Schneidewind (141), Mörig (142), Schüler (143), Gudewill (144), Trunz (145), v. Sigmund (146), Tangermann (147), Wiesand (148).

Posen, 20. Mai 1905.

#### Literatur.

- 1) Caron, Die Wirtschaftsweise in Ellenbach. (Jahrb. d. deutsch. Landwirtsch. Gesellsch. Bd. XV. 1900. p. 43.)
- 2) Henry, Bindung des atmosphärischen Stickstoffs durch die abgestorbenen Blätter im Walde. (Ann. de la science agronomique par L. Grandeau. T. VIII. 1903. p. 313.)
- 3) Bonnama, Gibt es Bakterien, die freien Stickstoff assimilieren, oder ist dies ein chemischer Prozeß? (Chemiker-Ztg. 1903. p. 148 u. 825.)
- 4) Sestini, Bildung von salpetriger Säure und Nitrifikation als chemischer Prozeß im Kulturboden. (Die landw. Versuchstationen. Bd. LX. p. 103.)
- 5) Pfeiffer, Th., Stickstoffsammelnde Bakterien, Brache und Raubbau. Berlin (Parey) 1904.
- 6) Löhnis, Die Bedeutung des Stickstoffs der Luft und des Bodens für die Pflanzen-erzeugung. (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 98.)
- 7) Kühn, Die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bodenbakterien ohne Symbiose mit Leguminosen. (Fühlings landw. Ztg. 1901. p. 2.)
- 8) v. Rümker, Der Boden und seine Bearbeitung. Berlin (Parey) 1904.
- 9) Beijerinck, Ueber oligonitrophile Mikroben. (Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 561.)
- 10) Beijerinck und van Delden, Ueber die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 3.)
- 11) Heinze, Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. (Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 43.)

- 12) Fischer, Ein Beitrag zur Kenntnis der Lebensbedingungen von stickstoffsammelnden Bakterien. (Journal f. Landwirtsch. Bd. LIII. 1905. p. 61 und Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 33.)
- 13) Gerlach und Vogel, Stickstoffsammelnde Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 669.)
- 14) Gerlach und Vogel, Weitere Versuche mit stickstoffbindenden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. p. 817.)
- 15) Gerlach und Vogel, Weitere Versuche mit stickstoffbindenden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 636.)
- 16) Vogel, Neuere Arbeiten über Stickstoffsammlung durch Bakterien ohne Symbiose mit Leguminosen. (Fühlings landw. Ztg. Bd. LII. Heft 5 u. 6.)
- 17) Winogradsky, Clostridium Pasteurianum, seine Morphologie und seine Eigenschaften als Buttersäureferment. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 43.)
- 18) Koch, A., Bodenbakterien und Stickstofffrage. (Vortrag, gehalten auf d. Vers. deutsch. Naturf. und Aerzte zu Karlsbad am 25. Sept. 1902.)
- 19) Koch, A., Rodenbakteriologische Forschungen und ihre praktische Bedeutung. (Vortrag, gehalten in der ökonom. Gesellsch. im Königr. Sachsen, am 4. Dez. 1903.)
- 20) Chester, Oligonitrophile Bodenbakterien. (Originalreferat. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 382.)
- 21) v. Freudenreich, Ueber stickstoffbindende Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 514.)
- 22) Benecke und Keutner, Ueber stickstoffbindende Bakterien aus der Ostsee. (Berichte d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XXI. 1903. Heft 6.)
- 23) Keutner, Ueber das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere. (Wissenschaftl. Meeresunters. Neue Folge. Bd. VIII. 1904.)
- 24) Krüger und Schneidewind, Sind niedere chlorophyllgrüne Algen imstande, den freien Stickstoff der Atmosphäre zu assimilieren und den Boden an Stickstoff zu bereichern? (Landw. Jahrbücher. Bd. XXIX. 1900. p. 771.)
- 25) Löhnis, Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 262.)
- 26) Wohltmann, Fischer und Schneider, Bodenbakteriologische und bodenchemische Studien aus dem (Poppelsdorfer) Versuchsfelde. (Journ. f. Landwirtsch. 1904. p. 97.)
- 27) Lipman, Experiments on the transformation and fixation of nitrogen by bacteria. (New Jersey State agricultural experiment station report. 1904.)
- 28) Heinze, Einige Berichtigungen und weitere Mitteilungen zu der Abhandlung: „Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen“. (cf. No. 11.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 9, 75, 168.)
- 29) Gerlach, Die Verwendung des Luftstickstoffs durch die landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. (Jahrb. d. deutsch. Landwirtsch. Gesellsch. 1902.)
- 30) Hiltner, Zur Kenntnis der Organismenwirkung im Boden und Stallmist. (Deutsche landw. Presse. 1901. No. 24, 25, 27.)
- 31) Remy, Bodenbakteriologische Studien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 657.)
- 32) Ehrenberg, Die bakterielle Bodenuntersuchung in ihrer Bedeutung für die Feststellung der Bodenfruchtbarkeit. (Landw. Jahrbücher. Bd. XXXIII. 1904. p. 1.)
- 33) Remy, Der gegenwärtige Stand und die künftigen Aufgaben der Bodenbakteriologie. (Illustr. landw. Ztg. 1903. No. 93—96.)
- 34) Remy, Die bakteriellen Hilfsmittel zur Erhaltung und Vermehrung der in der Wirtschaft umlaufenden Stickstoffvorräte. (Mentzel u. v. Lengerkes landw. Kalender. 1903. Berlin [Parey].)
- 35) Hiltner, Ueber neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. (Arbeiten d. deutsch. Landw. Gesellsch. Heft 98. 1904. p. 59.)
- 36) Behrens, Die Arbeit der Bakterien im Boden und Dünger. (Arbeiten d. deutsch. Landw.-Gesellsch. Heft 64. 1901. p. 108.)
- 37) Hiltner, Ueber neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie. (Vortrag, gehalten am 7. Febr. 1902 in der ökonom. Gesellsch. im Königr. Sachsen.) Dresden (Schönfeld) 1902.
- 38) Buhlert, Neuere Forschungen auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie. (Fühlings landw. Ztg. 1903. Heft 13 u. 14.)
- 39) Muth, Die Tätigkeit der Bakterien im Boden. (Verhandl. d. naturwiss. Vereins in Karlsruhe. 1903. p. 1.)
- 40) Stutzer, Die Nutzbarmachung des Stickstoffs der Luft für die Pflanzen. (Deutsche landw. Presse 1904. No. 10—19.)

- 41) Hiltner und Störmer, Studien über die Bakterienflora des Ackerbodens, mit besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens nach einer Behandlung mit Schwefelkohlenstoff und nach Brache. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am kais. Ges.-Amte. Bd. III. Heft 5. p. 445.)
- 42) Löhnis, Zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung, II. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 1.)
- 43) Behrens, Neuere Fortschritte der Bodenbakteriologie. (Mitteilg. d. Deutsch. Landw.-Gesellsch. 1904. p. 183.)
- 44) Neumann, Untersuchungen über das Vorkommen von stickstoffassimilierenden Bakterien im Ackerboden. (Die landw. Versuchs-Stat. Bd. LVI. 1901. p. 203.)
- 45) Jacobitz, Ueber stickstoffsammelnde Bakterien und ihre Bedeutung für die Landwirtschaft. (Münchener med. Wochenschr. 1902. No. 36.)
- 46) Süchting, Die Assimilation des freien atmosphärischen Stickstoffs im toten Laub der Waldbäume. (Amtsbl. d. Landw.-Kammer f. Kassel, abgedruckt in Hannoversche land- u. forstwirtsch. Ztg. Jahrg. LVIII. 1905. No. 3. p. 62.)
- 47) Schulze, Beiträge zur Alinitfrage. (Landw. Jahrbücher. Bd. XXX. 1901. p. 319.)
- 48) Heinze, Ueber die Beziehungen der sogenannten Alinitbakterien — *Bac. ellenbachensis* α Caron — zu dem *Bac. megatherium* de Bary, bezw. zu den Heubacillen — *Bac. subtilis* Cohn. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 391.)
- 49) Severin, Ein Beitrag zur Alinitfrage. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. p. 712.)
- 50) Jacobitz, Beitrag zur Frage der Stickstoffassimilation durch den *Bac. ellenbachensis* α Caron. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLV. 1903. p. 97.)
- 51) Moritz und Scherpe, Ueber die Bodenbehandlung mit Schwefelkohlenstoff und ihre Einwirkung auf das Pflanzenwachstum. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am kais. Ges.-Amte. Bd. IV. Heft 2. p. 123.)
- 52) Nobbe und Richter, Ueber die Behandlung des Bodens mit Aether, Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Benzol und Wasserstoffsuperoxyd und deren Wirkung auf das Wachstum der Pflanzen. (Die landw. Versuch-Stat. Bd. LX. 1904. p. 433.)
- 53) Saida, Ueber die Assimilation freien Stickstoffs durch Schimmelpilze. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. 1901. p. 107.)
- 54) Puriewitsch, Ueber die Stickstoffassimilation bei den Schimmelpilzen. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. 1895. p. 342.)
- 55) Brefeld, Versuche über die Stickstoffaufnahme bei den Pflanzen. (Jahrb. d. schles. Gesellsch. f. vaterl. Kultur. Sitz. d. zool.-bot. Sektion vom 15. Nov. 1900.)
- 56) Ternetz, Ueber Assimilation des freien Stickstoffs durch einen torfbewohnenden Pilz. (Referat. Biedermanns Centralbl. f. Agrikulturchemie. Bd. XXXIV. p. 205.)
- 57) Reinke, Symbiose von *Volvox* und *Azotobacter*. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XXI. 1903. p. 481.)
- 58) Fischer, Ueber Symbiose von *Azotobacter* mit *Oscillarien*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 267.)
- 59) Bouilhac et Giustiniani, Sur des cultures des diverses plantes supérieures en présence d'un mélange d'algues et de bactéries. (Compt. rend. de l'acad. des sciences. T. CXXXVIII. p. 293.)
- 60) Vibrans-Calvörde, Die Stickstoffwirtschaft in der Ackererde. (Deutsche landw. Presse 1904. p. 127.)
- 61) Vibrans-Wendhausen, Wie tief soll man pflügen, um sich die Tätigkeit der Bodenbakterien nutzbar zu machen? (Mitteilg. d. deutsch. Landw.-Gesellsch. 1904. Stück 17.)
- 62) Vibrans-Wendhausen, Nutzbarmachung des Luftstickstoffs. (Deutsche landw. Presse 1905. No. 11.)
- 63) Reitmair, Tätigkeitsbericht der Abteilung für Pflanzenbau an der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Wien. 1904.
- 64) Cöster, Bewirtschaftung des schweren Bodens. (Jahrbuch der deutsch. Landw.-Gesellsch. 1900. p. 55.)
- 65) Fruwirth, Die Beeinflussung der Bakterientätigkeit im Boden durch Impfung und Brachhaltung. (Wiener landw. Ztg. 1902. No. 17.)
- 66) Droop, Die Brache in der modernen Landwirtschaft. (Heidelberg. 1900.)
- 67) Reitmair, Die Stellung der Brache und Gründüngung in unseren modernen Fruchtfolgen. (Deutsche landw. Presse 1903. No. 44.)
- 68) Arndt, Die Stellung der Brache und Gründüngung in unseren modernen Fruchtfolgen. (Deutsche landw. Presse 1903. No. 58.)
- 69) Weineck, Die Bedeutung der Brache. Leipzig (Hugo Voigt).
- 70) Kruse, Düngerintensiv oder Brache. (Illustr. landw. Ztg. 1904. No. 43.)

- 71) Haedicke, Sollen wir Brache halten oder nicht? (Deutsche landw. Presse 1904. No. 55.)
  - 72) Ulrichs, Was bezweckt die Brachebearbeitung? (Deutsche landw. Presse 1904. No. 94.)
  - 73) Gerlach, Die Nutzbarmachung des atmosphärischen Stickstoffs. (Illustr. landw. Ztg. 1904. No. 5 u. 7.)
- 
- 74) Frank, Die Nutzbarmachung des freien Stickstoffs der Luft für Landwirtschaft und Industrie. (Zeitschr. f. angew. Chemie. Bd. XVI. 1903. p. 536.)
  - 75) Frank, Ueber Kalkstickstoff. (Deutsche landw. Presse 1905. No. 5.)
  - 76) von Lepel, Die Bindung des atmosphärischen Stickstoffs insbesondere durch elektrische Entladungen. Greifswald (Julius Abel) 1903.
  - 77) Gerlach, Gewinnung und landwirtschaftliche Verwendung des Kalkstickstoffs. (Deutsche landw. Presse 1904. No. 16.)
  - 78) Gerlach, Gewinnung und landwirtschaftliche Verwendung des Kalkstickstoffs. (Jahrbuch d. deutsch. Landw.-Gesellsch. 1904. Bd. XIX.)
  - 79) Wagner, Neues über die Verwendung des Luftstickstoffes. (Deutsche landw. Presse 1903. No. 55.)
  - 80) Gerlach u. Wagner, Neues über die Verwendung des Luftstickstoffes. (Deutsche landw. Presse 1903. No. 42.)
  - 81) Tacke, Ueber die Wirkung des Kalkstickstoffs auf Moorboden. (Illustr. landw. Ztg. 1904. No. 13.)
  - 82) Tacke, Ueber die Wirkung von Kalkstickstoff auf Hochmoorboden. (Illustr. landw. Ztg. 1905. No. 1.)
  - 83) Herzfeld, Ueber Kalkstickstoff. (Bl. f. Zuckerrübenbau. 1904. No. 5.)
  - 84) Zielstorff, Ein Beitrag zur Wirkung des Kalkstickstoffs. (Illustr. landw. Ztg. 1904. p. 1103.)
  - 85) Edler, Düngungsversuche mit Kalkstickstoff zu Runkeln. (Deutsche landw. Presse. 1905. No. 1.)
  - 86) Löhnis, Ueber die Zersetzung des Kalkstickstoffs. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 87 u. 389.)
  - 87) Rössler, Gefäß- und Feldversuche mit Kalkstickstoff. (Illustr. landw. Ztg. 1905. No. 33.)
- 
- 88) Remy, Stickstoffbindung durch Leguminosen. (Verhandlg. d. Gesellsch. deutsch. Naturf. u. Aerzte. Karlsbad 1902. Teil I. p. 200.) Leipzig (F. C. W. Vogel) 1903.
  - 89) Hiltner, Die Keimungsverhältnisse der Leguminosensamen und ihre Beeinflussung durch Organismenwirkung. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft. am kais. Ges.-Amte. Bd. III. 1902. Heft 1.)
  - 90) Dehérain und Demoussy, Sur la culture des lupins blancs. (Compt. rend. de l'Acad. des Sciences Paris. 1900. T. CXXX. p. 20) und Sur la culture des lupins bleus. (Ibid. p. 465.)
  - 91) Hiltner und Störmer, Neue Untersuchungen über die Wurzelknöllchen der Leguminosen und deren Erreger. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstw. am kais. Ges.-Amte. Bd. III. 1903. Heft 3.)
  - 92) Stutzer, Die Bildung von Bakteroiden in künstlichen Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd VII. 1901. p. 897.)
  - 93) Neumann, Die Bakterien der Wurzelknöllchen der Leguminosen. (Die landw. Versuchs-Stationen. Bd. LVI. 1902. p. 187.)
  - 94) Süchting, Kritische Studien über die Knöllchenbakterie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. p. 377.)
  - 95) Steglich, Bericht über die Tätigkeit der landwirtschaftlichen Abteilung der kgl. Versuchsstation für Pflanzenkultur zu Dresden im Jahre 1903.
  - 96) Smith, The nature of bacteroids of the leguminous nodules and the culture of *Rhizobium leguminosarum*. (Proceed. of the Linnean soc. of N. S. Wales. 1901. p. 152.)
  - 97) Buhlert, Untersuchungen über die Arteinheit der Knöllchenbakterien der Leguminosen und über die landwirtschaftliche Bedeutung dieser Frage. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 148 und Fühlings landw. Ztg. 1902. p. 385.)
  - 98) Paratore, Sul polimorfismo del *Bacillus radicicola* Beij. (Malpighia. Vol. XV. 1902. p. 175.)
  - 99) Remy, Ueber die Steigerung des Stickstoffsammelungsvermögens der Hülsenfrüchte durch bakterielle Hilfsmittel. (Deutsche landw. Presse. 1902. No. 5—7.)
  - 100) Hiltner, Ueber die Impfung der Leguminosen mit Reinkulturen. (Deutsche landw. Presse. 1902. p. 119.)

- 101) Hiltner, Beiträge zur Mycorrhizafrage. Ueber die biologische und physiologische Bedeutung der endotrophen Mycorrhiza. (Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. I. 1903. Heft 1. p. 9.)
- 102) Wagner, Phosphorsäure-, Kali-, Kalk- und Stickstoffdüngungsfragen. (Arb. d. deutsch. Landw.-Gesellschaft. Heft 64. 1902. p. 140.)
- 103) Nobbe und Richter, Ueber den Einfluß des Nitrastickstoffs und der Humussubstanzen auf den Impferfolg bei Leguminosen. (Die landw. Versuchs-Stat. Bd. LVI. 1902. p. 441.)
- 104) Nobbe und Richter, über den Einfluß des im Kulturboden vorhandenen assimilierbaren Stickstoffs auf die Aktion der Knöllchenbakterien. (Die landw. Versuchs-Stat. Bd. LIX. 1904. p. 167.)
- 105) Marchal, Influence des sels minéraux nutritifs sur la production des nodosités chez le Pois. (Compt. rend. T. CXXXIII. p. 1032.)
- 106) Wohltmann und Bergené, Die Knöllchenbakterien in ihrer Abhängigkeit von Boden und Düngung. (Journal f. Landwirtschaft. 1902. p. 377.)
- 107) Moore, Soil inoculation for legums, with reports upon the successful use of artificial cultures by practical farmers. Washington (Government printing office) 1905.
- 108) Nobbe und Richter, Ueber die Nachwirkung einer Bodenimpfung zu Schmetterlingsblütlern auf andere Kulturgewächse. (Die landw. Versuchs-Stat. Bd. LIX. 1904. p. 174.)
- 109) v. Seelhorst, Freckmann und Bünger, Untersuchungen über den Einfluß der Feuchtigkeit des Bodens auf das Wachstum, den Wasserverbrauch und die Stickstoffsammlung verschiedener Lupinenarten. (Illustr. landw. Ztg. 1904. No. 38.)
- 110) Salfeld, Vernichtet Aetzkalk die Leguminosenpilze auf hohem, leichtem Sandboden? (Hannoversche land- u. forstwirtschaft. Ztg. Bd. LIII. No. 39.)
- 111) Laurent, Observations sur le développement des nodosités radicales chez les légumineuses. (Compt. rend. T. CXXXIII. p. 1241.)
- 112) Schulze, Serradella und Kalk. (Deutsche landw. Presse 1902. p. 822.)
- 113) Bachmann, Die Wirkung der Stickstoff-, Stallmist-, Kali-, Phosphorsäure- und Kalkdüngung zu Leguminosen. (Illustr. landw. Ztg. 1903. No. 40.)
- 114) Buhlert, Ein weiterer Beitrag zur Frage der Arteinheit der Leguminosen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 892 und Fühlings landw. Ztg. 1902. p. 852.)
- 115) Anweisung für den Gebrauch der Reinkulturen von Knöllchenbakterien zur Impfung der Hülsenfrüchte und Kleearten. (Flugblatt No. 2. Verlag von Eugen Ulmer, Stuttgart.)
- 116) Golding, Sugar as an agent in nitrogen fixation and an aid to the growth of plants. (Journ. of the Soc. of chem. industry. Vol. XVIII. 1899. No. 6 und Ebenda Bd. XIX. 1900. No. 4.)
- 117) Hiltner, Die Impfung der Leguminosen mit Reinkulturen und ihre praktische Bedeutung. (Vortrag in der landw. Sektion des 5. intern. Kongresses f. angew. Chemie, Berlin 1903.)
- 118) Hiltner, Bericht über die Ergebnisse der im Jahre 1903 in Bayern ausgeführten Impfversuche mit Reinkulturen von Leguminosen-Knöllchenbakterien (Nitragin). Stuttgart (Eugen Ulmer) 1904.
- 119) Schnider, Die im Jahre 1902 in der Oberpfalz ausgeführten Versuche zur Impfung stickstoffsammelnder Kulturpflanzen mit Reinkulturen von Knöllchenbakterien. (Praktische Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. I. 1903. p. 25.)
- 120) Thiele, Ein Beitrag zur Impfung der Leguminosen mit Nitragin. (Zeitschr. d. Landw.-Kammer f. d. Prov. Schlesien. 1902. Heft 43.)
- 121) Salfeld, Bodenimpfung bei der Hochmoorkultur. (Illustr. landw. Ztg. 1904. No. 13.)
- 122) Fruwirth, Versuche mit Gründüngung. (Mitt. d. deutsch. Landw. Gesellsch. 1903. No. 14.)
- 123) Arndt, Neue Aussichten für Gründüngung. (Deutsche landw. Presse. 1903. No. 27.)
- 124) — Zur Gründüngungsfrage unter schweren Bodenverhältnissen. (Deutsche landw. Presse. 1903. No. 69.)
- 125) — Bestellung der Winterung in Gründüngung. (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 33.)
- 126) Causemann, Eine sehr verschiedene Gründüngerwirkung je nach der Zeit des Unterpflügens. (Deutsche landw. Presse. 1903. No. 31.)
- 127) — Zur Gründüngungsfrage. (Deutsche landw. Presse. 1903. No. 41.)
- 128) — Die Bedeutung der Gründüngungsfrage. (Deutsche landw. Presse. 1903. No. 47.)

- 129) Causemann, Die Vorteile eines richtig zu Sommergetreide verwendeten Gründüngers. (Deutsche landw. Presse. 1903. No. 63.)
- 130) Böde, Zur Gründüngungsfrage. (Deutsche landw. Presse. 1903. No. 37.)
- 131) Haedike, Der aus der Anwendung des Gründüngers entstehende Nutzen für unsere wirtschaftlichen Verhältnisse. (Deutsche landw. Presse. 1903. No. 49.)
- 132) Bässler, Gründüngungsversuche in Pommern. (Mitt. d. deutsch. Landw.-Gesellsch. 1902. p. 273.)
- 133) — Bericht über die in Pommern laufenden Gründüngungsversuche und deren bisherige Ergebnisse. (Mitt. d. deutsch. Landw.-Gesellsch. 1904. No. 32.-33.)
- 134) Arnstadt, Zur Frage der Gründüngung auf schweren Böden. (Deutsche landw. Presse. 1903. No. 74.)
- 135) Janeba, Zur Frage der Gründüngung auf schweren Böden. (Deutsche landw. Presse. 1903. No. 72.)
- 136) Otte, Zur Frage der Gründüngung auf schwerem Boden. (Deutsche landw. Presse. 1903. No. 76.)
- 137) Bongardt, Erfahrungen mit Gründüngung als Zwischenfruchtbau im Osten Deutschlands. (Deutsche landw. Presse. 1903. No. 88.)
- 138) Vibrans, Was lehrt uns Lupitz? (Jahrbuch d. deutsch. Landw.-Gesellsch. Bd. XVIII. Teil II.)
- 139) Bannert, Erfahrungen mit Gründüngung in Oberschlesien. (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 13.)
- 140) Petermann, Versuche über die Wirkungskdauer einer Gründüngung. (Bull. No. 73. Inst. Chim. et Bact. de l'Etat à Gambroux.)
- 141) Schneidewind, Die Gründüngung auf besserem Boden. (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 7.)
- 142) Mörig, Erfahrung über Gründüngung. (Mitt. d. deutsch. Landw.-Gesellsch. 1904. No. 15.)
- 143) Schüler, Erfahrungen über Gründüngung. (Mitt. d. deutsch. Landw.-Gesellsch. 1904. No. 12.)
- 144) Gudewill, Erfahrungen über Gründüngung. (Mitt. d. deutsch. Landw.-Gesellsch. 1904. No. 18.)
- 145) Trunz, Die Verwendung künstlichen Düngers bei der Gründüngung. (Illustr. landw. Ztg. 1904. No. 46.)
- 146) v. Sigmond, Beiträge zur Frage des Düngerwertes verschiedener Stickstoffdünger, mit besonderer Rücksicht auf Gründünger und Stallmist. (Die landw. Vers.-Stationen. Bd. LIX. p. 179.)
- 147) Tangermann, Zuckerrüben in Grün- und Stalldünger. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. 1904. p. 339.)
- 148) Wiesand, Erfahrungen aus dem letzten trockenen Sommer über Stoppel-Gründüngung. (Illustr. landw. Ztg. 1904. p. 1116.)

*Nachdruck verboten.*

## Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Uredineen.

Von Prof. Dr. Ed. Fischer, Bern.

### 1. Pucciniastrum (Thecopsora) Padi (Kze. et Schm.) Diet.

Die Zusammengehörigkeit des bekannten *Aecidium strobilinum* und der Uredo- und Teleutosporenform von *Pucciniastrum Padi* ist durch die Versuche von Klebahn<sup>1)</sup> und v. Tubeuf<sup>2)</sup> erwiesen worden. Ersterer hatte am 25. Mai und 8. Juni Basidiosporen des *Pucciniastrum* auf junge Triebe der Rottanne ausgesät. Anfang Juli fiel ihm dann an den infizierten Fichten ein eigentümlicher Geruch auf, der lebhaft an diejenigen von Pykniden erinnerte, ohne daß es ihm aber dabei möglich wurde, solche Fruktifikationen direkt zu beobachten. Immerhin konnte aber in den betreffenden Trieben die Gegenwart eines Mycels nachgewiesen

1) Kulturversuche mit Rostpilzen. (VIII. Bericht. (Jahrb. f. wissensch. Botanik. Bd. XXXIV. p. 378 ff. und IX. Bericht. Ibid. Bd. XXXV. p. 695 ff.)

2) Arbeiten aus der biolog. Abteilung für Land- u. Forstwirtschaft am Kais. Gesundheitsamte. Bd. II. Berlin 1901. p. 164 ff.

werden. Daraus ließ sich der Schluß ziehen, daß *Pucciniastrum Padi* mit einem auf Fichten lebenden *Aecidium* in genetischem Zusammenhange stehe; Klebahn dachte dabei natürlich an *Aecidium strobilinum* und *Aecidium conorum* Piceae. Bald darauf konnte denn auch in der Tat v. Tubeuf durch Aussaat von Sporen des *Aecidium strobilinum* auf Blättern von *Prunus Padus* die charakteristischen Uredolager von *Pucciniastrum Padi* erzielen. Ich konnte selber<sup>1)</sup> dieses Ergebnis bestätigen, indem ich im botanischen Garten in Bern Aecidien-behaftete Rottannenzapfen in den Zweigen einer *Prunus Virginiana* aufhängte und dann ebenfalls *Uredo* auftreten sah. — Später hat dann v. Tubeuf<sup>2)</sup> auch die Klebahnschen Versuche wiederholt und dabei sogar 3 wohlentwickelte Aecidien erhalten. Nichtsdestoweniger ist aus den bisherigen Beobachtungen ersichtlich, daß das Aecidienmycel von *Pucciniastrum Padi* in den Zweigen und Blättern der Fichte nicht seine normalen Entwicklungsbedingungen findet, denn solche infizierte Triebe gehen nach einiger Zeit zu Grunde; vielmehr war vorauszusehen, daß nur eine direkte Infektion der weiblichen Blüten zu einer normalen Aecidienbildung in den Zapfen führen könne. Der Ausführung solcher Versuche stehen aber gewisse praktische Schwierigkeiten im Wege, und diese bestehen darin, daß die weiblichen Blüten meist nur in den oberen Teilen größerer Bäume zur Entwicklung kommen, was für den Experimentator nicht gerade bequem ist, und ferner darin, daß nicht alle Jahre eine reichliche Blütenentwicklung der Rottanne stattfindet, und es also immerhin eine gewisse Chance ist, wenn man gerade in den Jahren reichlicher Fichtenblüte Teleutosporen zur Verfügung hat.

Ein günstiger Umstand versetzte mich nun in die Lage, einen solchen Versuch ausführen zu können: Im botanischen Garten in Bern besitzen wir eine kleinere, jetzt gegen 3 m hohe Schlangenfichte (*Picea excelsa* f. *virgata*). Dieselbe gelangte in diesem Frühjahr zur Blüte und produzierte neben männlichen Blüten auch ziemlich viele weibliche. Gleichzeitig befand ich mich im Besitz von gutem Teleutosporenmaterial von *Pucciniastrum Padi*. Ich hatte dasselbe am 3. September des letzten Jahres in der Kilei, einem Seitentälchen des Diemtigenthal im Berner Oberland gesammelt auf *Prunus Padus*, in deren Nähe auch die vorjährigen Zapfen der Rottanne *Aecidium strobilinum* trugen.

Mit diesem Teleutosporenmaterial wurden folgende Versuche eingeleitet:

Versuch No. 1—5. Am 2. Mai umwickelte ich 5 weibliche Blüten jener Schlangenfichte mit teleutosporentragenden, zuvor in Wasser aufgeweichten *Prunus*-Blättern; diese ihrerseits erhielten dann eine weitere Umhüllung von Filtrierpapier und von Gaze, einerseits, um die Teleutosporen feucht zu halten, andererseits um eine weitere Verbreitung der Basidiosporen, wenn auch nicht völlig, so doch nach Möglichkeit zu verhindern. Die männlichen Blüten waren, soviel ich sah, in diesem Zeitpunkt noch nicht offen, aber doch dem Verstäuben nahe.

Versuch No. 6 und 7. Am 2. Mai wurden teleutosporentragende *Prunus*-Blätter auf zwei kleine Topfpflanzen von *Picea excelsa* aufgelegt. Die diesjährigen Triebe derselben sind eben im Begriff, sich zu entfalten. Natürlich wurde dafür gesorgt, daß die ausfallenden Basidiosporen auf diese jungen Triebe gelangten.

1) Fortsetzung der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze. (Berichte der schweizerischen botan. Gesellschaft. Heft 12. 1902. p. 8.)

2) Arbeiten aus der biolog. Abteilung etc. I. c. p. 365 (nach Klebahn, Die wirtwechselnden Rostpilze. 1904. p. 395).



Versuch No. 8 und 9, mit weiblichen Blüten der Schlangenfichte eingeleitet am 5. Mai, und zwar in derselben Weise wie die Versuche No. 1—5. Die Antheren der männlichen Blüten sind jetzt reif.

Versuch No. 10 und 11. Gleichzeitig mit Versuch 8 und 9 eingeleitet und in derselben Art, nur mit dem Unterschiede, daß nicht weibliche Blüten, sondern zwei junge, eben in Entfaltung begriffene beblätterte Triebe der Schlangenfichte mit teleutosporentragenden Blättern umwickelt werden.

Versuch No. 12 und 13, eingeleitet am 8. Mai. Zum Zwecke der Infektion werden 2 weibliche Blüten der Schlangenfichte mit Wasser bepinselt, in das ich vorher Basidiosporen hatte ausfallen lassen. Nachher wurden die jungen Zapfen wie in den früheren Versuchen mit Filtrierpapier und Gaze umwickelt, um sie feucht zu halten. Die männlichen Blüten sind jetzt verstäubt.

Versuch No. 14 und 15, eingeleitet am 8. Mai in gleicher Weise wie Versuch 12 und 13, nur werden statt auf weiblichen Blüten die Basidiosporen auf junge beblätterte Triebe aufgetragen.

Das Teleutosporenmaterial und die Filtrierpapierumhüllungen wurden bei Versuch 1—5 am 6. Mai, bei Versuch 8—15 am 9. Mai von den Zapfen bzw. Trieben der Schlangenfichte entfernt. Versuch 6 und 7 wurden am 6. Mai aus dem Zimmer in ein Gewächshaus gebracht.

Die Witterung war im Zeitraum vom 2.—9. Mai meist regnerisch und kühl.

Der erste Erfolg dieser Infektionen zeigte sich an einer der beiden kleinen Topfpflanzen von *Picea excelsa* (Versuch No. 6): Am 2. Juni konstatierte ich am Endtrieb und an ca. fünf weiteren diesjährigen Trieben eine blasse Verfärbung einer größeren oder kleineren Zahl von Nadeln, zugleich war an der Achse und an einzelnen Blättern des Endtriebes eine starke Ausscheidung trüber Tropfen und ein sehr starker, widerlich süßlicher Geruch bemerkbar. An verschiedenen Blättern dieser erkrankten Triebe erkennt man ferner weißliche Pusteln, die sich bei mikroskopischer Untersuchung als Pykniden zu erkennen gaben. Dieselben sind aber nicht, wie bei den meisten Uredineen, krugförmige Behälter, sondern flache offene Lager von konidienabschnürenden Sterigmen. — Die beblätterten Triebe der Schlangenfichte, welche mit Teleutosporenmaterial versehen worden waren (Versuche No. 10, 11, 14, 15), scheinen dagegen nicht infiziert worden zu sein, wenigstens konnte ich dort weder Pykniden noch jenen eigentümlichen Geruch wahrnehmen.

Die infizierten weiblichen Blüten bzw. Zapfen der Schlangentanne zeigten bei einer am 22. Juni vorgenommenen Kontrolle folgendes Verhalten:

No. 2, 5 und 12 sind schon frühzeitig abgestorben, in einem Stadium, in welchem sie noch nach oben gerichtet waren.

No. 1, 4 und 13 zeigen, soweit dies äußerlich festgestellt werden kann, völlig normale Entwicklung und lassen keinen Unterschied gegenüber denjenigen Zapfen erkennen, welchen kein Teleutosporenmaterial aufgelegt worden war. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß sie sich nicht bei der Reife zum Teil als infiziert erweisen werden.

No. 3, 8 und 9 ließen (abgesehen von vereinzelt lokalen Läsionen bei No. 3) äußerlich ebenfalls ganz normale Verhältnisse erkennen. Die betreffenden Zapfen sind wie die normalen hängend, grünlich gefärbt und die Schuppen erscheinen meistens ganz dicht aufeinanderliegend. Auch die Größe ist die der gesunden Zapfen. Allein ich bemerkte, daß an

diesen 3 Zapfen an mehr oder weniger zahlreichen Stellen zwischen den Schuppen weißliche trübe Tropfen ausgetreten sind, die einen süßen Geschmack und einen Geruch wahrnehmen lassen, ähnlich demjenigen im Versuch No. 6, nur weniger ausgesprochen. Die mikroskopische Untersuchung lehrte, daß diese Tropfen von massenhaften Konidien (Spermatien) wimmeln. Der Zapfen No. 9 wurde nun behufs näherer Untersuchung abgeschnitten. Er mißt 8 cm Länge. Beim Aufbrechen desselben fand ich auf den oberen Schuppen in großer Zahl junge, noch weiß gefärbte Aecidien in verschiedenen Stadien der Entwicklung. Pykniden habe ich dagegen nicht bemerkt, wahrscheinlich war ihre Entwicklung in diesem Zeitpunkt schon vorüber; aber die erwähnte Tropfenbildung läßt keinen Zweifel darüber aufkommen, daß solche auch in den Zapfen zur Ausbildung gelangt waren.

Am 12. Juli wurde sodann der Zapfen No. 3 abgeschnitten und näher untersucht: Soviel ich sehen konnte, tragen sämtliche Schuppen desselben Aecidien; an der Spitze des Zapfens sind die letzteren reif, gegen die Basis dagegen noch weiß.

Am 26. August endlich schnitt ich auch den Zapfen No. 8 ab und unterzog ihn Tags darauf näherer Untersuchung: seine Schuppen sind größtenteils vorzeitig gebräunt und vertrocknet und sind fast ohne Ausnahme sämtlich mit Aecidien besetzt. Die letzteren erscheinen an den vertrockneten Schuppen in ihrer Entwicklung gehemmt, an den noch grünen Schuppen findet man sie noch in Form weißer Höcker.

Unsere Versuchsergebnisse bestätigen somit die Annahme, daß die normale Entwicklung der Aecidien von *Pucciniastrum Padi* in den Zapfen erfolgt, daß die Infektion der letzteren durch die Basidiosporen ungefähr zur Zeit der Bestäubung vor sich geht und daß die Aecidien noch im gleichen Sommer heranreifen. — Da ferner der am 22. Juni abgeschnittene Zapfen nur an den oberen Schuppen junge Aecidien zeigte, während am 12. Juli und 26. August die Zapfen gleichmäßig von solchen besetzt erscheinen, und da es höchst unwahrscheinlich ist, daß bei der Infektion sämtliche Schuppen Basidiosporen erhielten, so hat Rees jedenfalls Recht mit seiner Angabe, daß das Mycel aus einer Zapfenschuppe durch die Achse in andere dringt.

## 2. *Puccinia Liliacearum* Duby.

*Puccinia Liliacearum* lebt nach den Angaben der Autoren<sup>1)</sup> auf Vertretern der Gattungen *Ornithogalum* und *Muscari*, sowie auf *Bellevalia romana* und *Hyacinthus ramosus*. Man betrachtet sie gewöhnlich als *Pucciniopsis*, bei der aber sowohl die Aecidien als auch die Teleutosporen von Pykniden begleitet sein sollen. Alle diese Angaben sind aber noch der Prüfung bedürftig: einerseits läßt die Analogie mit anderen Uredineen die Frage aufkommen, ob es wirklich ein und dieselbe biologische Art ist, welche auf allen genannten Nährpflanzen lebt, und andererseits macht es das Vorkommen von Pykniden in Gesellschaft der Aecidien sowohl wie auch der Teleutosporen unwahrscheinlich, daß die letzteren Fruchtformen wirklich beide in den Entwicklungskreis desselben Pilzes gehören; es erscheint vielmehr a priori wahrscheinlicher, daß die Aecidien einer anderen, heteröcischen, Art angehören und *P. Liliacearum* selber eine pyknidenbildende *Micropuccinia* darstellt.

1) Vergl. Sydow, *Monographia Uredinearum*. Vol. I. Lipsiae 1904.

Am 22. März 1904 fand ich am Westabhange des Belpberges bei Bern in der Nähe eines Bauernhauses *Puccinia Liliacearum* in reichlicher Entwicklung auf Blättern von *Ornithogalum umbellatum* und zwar in Pykniden und jungen Teleutosporenlagern. Aecidien waren dagegen nicht zu finden. In der ersten Hälfte April, als die Teleutosporen besser entwickelt waren, sammelte ich den Pilz reichlicher ein und leitete damit folgende Versuche ein:

Versuch No. 1. Eine Gruppe von *Ornithogalum*-Pflanzen, deren Blätter, hauptsächlich an ihrer Spitze, Teleutosporen trugen, wurde mit Erdballen ausgegraben, dann die Blätter abgeschnitten und Tags darauf die Zwiebeln von der Erde befreit, sorgfältig gereinigt und abgewaschen und hierauf in einen Blumentopf mit frischer Erde eingesetzt. Dieser Versuch sollte dartun, ob bei *P. Liliacearum* das Mycel in den Zwiebeln überwintert und von da im Frühjahr in die jungen Blätter hineinwachse. Im Frühjahr 1905 hatten sich nun zahlreiche Blätter entwickelt und zwar vollkommen gesund und normal, mit Ausnahme einer einzigen kleinen Pyknidengruppe, die am 12. April an einem Blatte wahrgenommen wurde. Eine Mycelüberwinterung mit nachheriger Entwicklung in den Blättern hätte natürlich ein ganz anderes Resultat ergeben müssen, und man kann daher ohne weiteres schließen, daß hier eine Mycelüberwinterung nicht stattfindet. Jene kleine Pyknidengruppe muß darauf zurückgeführt werden, daß trotz aller Sorgfalt eben doch einige Teleutosporen noch den Zwiebeln anhafteten oder in die Erde des Blumentopfes gelangt waren.

Versuch No. 2. Teleutosporentragende *Ornithogalum*-Blätter werden in einen kleinen Sack gebracht, und auf einer offenen Laube im Winter ganz im Freien aufgehängt. Es ist dies dasselbe Verfahren, welches ich bei anderen Uredineen mit gutem Erfolge zur Ueberwinterung der Teleutosporen angewendet habe. Hier aber versagte es: im Frühjahr 1905 scheinen die Sporen ihre Keimfähigkeit eingebüßt zu haben, ja sie machten den Eindruck, abgestorben zu sein.

Versuch No. 3. Teleutosporentragende Blätter in größerer Menge wurden mit Erde gemengt und in einem offenen Holzkistchen ins Freie gestellt, um auf diese Weise eine teleutosporenführende Komposterde zu erhalten. In diese wurden dann im Herbst 1904 die Zwiebeln folgender Liliaceen eingesetzt:

*Ornithogalum umbellatum* (gesunde Pflanzen aus dem botanischen Garten in Bern), *Ornithogalum pyrenaicum* (aus dem botanischen Garten in Bern), *Ornithogalum narbonense*, *Ornithogalum nutans*, *Muscari racemosum*, *Muscari comosum*, *Bellevalia romana* (letztere fünf bezogen von Haage & Schmidt in Erfurt).

Es war bei dieser Versuchseinrichtung zu gewärtigen, daß im Frühjahr die austreibenden Blätter bei ihrem Durchtreten durch die teleutosporenführende Erde von den keimenden Teleutosporen bzw. deren Basidiosporen infiziert werden müßten. Das geschah denn auch, und zwar mit folgendem Ergebnis:

*Ornithogalum umbellatum*: Am 30. März zeigen sich die aus dem Boden tretenden, zum Teil noch sehr jungen Blätter mit blassen oder gelblichen Flecken besetzt, an welchen zum Teil Pykniden erkennbar sind. Am 12. April findet man auch junge Teleutosporenlager.

*Ornithogalum pyrenaicum*: Am 30. März Blätter wohlentwickelt, die äußersten, ältesten besonders an der Spitze stark infiziert und reichlich Pykniden tragend. Am 12. April wurden vereinzelte Teleutosporenlager bemerkt.

*Ornithogalum narbonense*. Am 30. März sind die Blätter größtenteils gut entwickelt, die äußeren zeigen weiße Flecke, zum Teil mit Pykniden. Eine spätere Kontrolle am 25. Mai ergab das Vorhandensein von Teleutosporenlagern.

*Ornithogalum nutans*. Am 30. März wohlentwickelte Blätter mit weißlichen Flecken; doch habe ich keine Pykniden bemerkt. Indes sind die Blätter stark zerfressen, so daß ich nicht zu behaupten wage, es seien keine Pykniden vorhanden gewesen.

*Muscari racemosum*, *M. comosum* und *Bellevalia romana* bleiben dagegen dauernd frei von Infektion.

Aus dieser Versuchsreihe ergibt sich also erstens, daß diejenige *Puccinia Liliacearum*, welche *Ornithogalum* bewohnt, nur auf *Ornithogalum*-arten übergeht, aber nicht auf *Muscari* und *Bellevalia* — zweitens, daß bei *P. Liliacearum* Aecidien nicht gebildet werden<sup>1)</sup>.

Der Entwicklungsgang von *Puccinia Liliacearum* gestaltet sich demnach wie folgt: Frühzeitig im Frühjahr entstehen auf den Blättern von *Ornithogalum* die Pykniden, auf welche sehr bald die Teleutosporen folgen. Die letzteren gelangen dadurch, daß sie sich ablösen, oder durch Verwesung der Blätter der Nährpflanze auf den Boden und überdauern hier in den obersten Lagen der Ackererde den Sommer und den darauffolgenden Winter. Bald nach dem Ausapern des Bodens keimen sie und infizieren die jetzt aus dem Boden hervordringenden jungen *Ornithogalum*-Blätter.

Abgesehen von den Pykniden liegt also hier ein Entwicklungsgang vor, der lebhaft an denjenigen mancher Ustilagineen erinnert, wie denn überhaupt die *Micro-Uromyces* und *Micro-Puccinien* mit leicht abfälligen Teleutosporen den Ustilagineen sehr nahe stehen. Es wird dadurch die weitere Frage nahegelegt, ob nicht speziell bei diesen Uredineen, ebenso wie bei den Ustilagineen, die Keimung durch Zufuhr organischer Nährstoffe befördert wird.

*Nachdruck verboten.*

## Weitere Versuche mit schweizerischen Weidenmelampsoren.

[Aus dem botanischen Institut Bern.]

Von cand. phil. **Otto Schneider**, Bern.

(Vorläufige Mitteilung.)

In Fortsetzung der letztjährigen Infektionsversuche mit Weidenrostpilzen, über welche ich seinerzeit in dieser Zeitschrift kurz berichtete<sup>2)</sup>, gelang es auch seither, unsere Kenntnisse der schweizerischen Weidenmelampsoren zu erweitern.

1) In Uebereinstimmung mit letzterem Resultat hat inzwischen Bubák (*Annales Mycologici*. Vol. III. 1905. p. 222) gezeigt, daß die Pykniden, welche zum *Aecidium* auf *Ornithogalum* gehören, von denjenigen, die mit den Teleutosporen auftreten, verschieden sind und trennt daher mit Recht das *Aecidium* ab unter dem Namen *Aecidium ornithogaleum*.

2) Schneider, O., Versuche mit schweizerischen Weidenmelampsoren. (*Centralbl. f. Bakt.* Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 222 ff.)

Die hauptsächlichsten Resultate der Kulturversuche dieses Sommers sind folgende:

#### Melampsora Ribesii-Grandifoliae.

Mit Teleutosporen einer Melampsora auf der Blattunterseite von *Salix grandifolia* Seringe aus dem Neuenburger Jura erzielte ich im Laufe dieses Frühjahres viele Caeomalager auf Blattunterseite und Blattstiel von *Ribes alpinum*, weniger auf *R. aureum* und *sanguineum* und gar kein Infektionsresultat auf *R. Grossularia*, *rubrum* und *nigrum*, auf *Larix decidua* und *Evonymus europaeus*. Es mag hier beigelegt werden, daß in dem erwähnten Teile des Jura auf *Ribes alpinum* schon zu wiederholten Malen reichliches Caeoma beobachtet wurde.

Bei den Rückinfektionsversuchen auf verschiedene Salices entstand die größte Zahl von Uredolagern auf *Salix grandifolia*, weniger auf *S. aurita*, ganz vereinzelte auf *S. arbuscula*, während eine Reihe von Weidenarten vollständig gesund blieben, nämlich *Salix viminalis*, *purpurea*, *cinerea*, *Russeliana*, *Capraea*, *daphnoides*, *alba*, *amygdalina*, *fragilis*, *incana*, *nigricans*, *elegantissima* und *dasyclados*. Melampsora Ribesii-Grandifoliae, wie die vorläufige Benennung lauten mag, steht morphologisch und besonders biologisch *M. Ribesii-auritae* Kleb.<sup>1)</sup> am nächsten, letztere hat aber als Caeomahospitanten auch *Ribes nigrum* und *R. Grossularia*, und ihr Uredo bewohnt außer *Salix aurita* — wenn auch spärlicher — *S. cinerea* (?) und *S. Capraea*.

#### Melampsora Larici-Reticulatae.

Mit Melampsoren auf schweizerischen alpinen Weiden haben bis jetzt Jacky<sup>2)</sup>, Fischer<sup>3)</sup> und Klebahn<sup>4)</sup> experimentiert. Ihre Untersuchungen beschäftigten sich mit zwei Formen, mit Melampsora alpina Juel, die in der Caeomagenation *Saxifraga oppositifolia* bewohnt und *M. Larici-retusae* Ed. Fischer, welche die Uredo- und Teleutosporen auf *Salix retusa* und *S. herbacea*, schwächer auf *S. reticulata* und *serpyllifolia* bildet.

Für den letzterwähnten Pilz wurde von Fischer und Klebahn ferner nachgewiesen, daß er die nicht alpinen Weidenarten nur spärlich oder gar nicht infiziert (in einem einzigen Falle mäßig stark). Dementsprechend ergaben auch meine letztjährigen Versuche mit nicht alpinen *Salix*-Melampsoren aus der Umgebung von Bern bei Aussaat auf alpine Weiden einen negativen Erfolg. Es war deshalb zu erwarten, daß sich bei weiteren Kulturversuchen mit den Rostpilzen unserer Alpenweiden neue Resultate ergeben würden.

Teleutosporen auf der Blattunterseite von *Salix reticulata* L., die ich letzten Herbst am Oberhornsee und auf der Schynigen Platte im Berner Oberland sammelte, erzeugten in allen Versuchsreihen massenhaft Caeoma auf *Larix decidua*, während *Saxifraga aizoides*, *Ribes alpinum* und *Evonymus europaeus* immer ganz pilzfrei blieben.

1) Klebahn, Kulturversuche mit Rostpilzen. IX. u. XI. Bericht.

2) Jacky, Untersuchungen über einige schweiz. Rostpilze. (Berichte der schweiz. Bot. Gesellschaft. 1899. Heft 9. p. 50 ff.)

3) Fischer, Ed., Fortsetzung der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze. (Ber. d. schw. Bot. Ges. 1904 u. 1905. Heft 14 u. 15.)

4) Klebahn, Kulturversuche. XII. Bericht. 1905.

Die Rückinfektion ergab üppige Uredoentwicklung auf *Salix reticulata* und *S. hastata*, schwache auf *S. herbacea* und verlief jedesmal resultatlos auf *S. retusa*, *serpyllifolia*, *acutifolia*, *Capraea*, *daphnoides*, *aurita*, *cinerea*, *nigricans*, *incana*, *purpurea*, *viminialis*, *arbuscula*, *elegantissima*, *Russeliana*, *fragilis*, *repens*, *amygdalina*, *pentandra* und *alba*.

*M. Larici-Reticulatae*, die morphologisch ebenfalls dem *Epithea*-Typus zuzurechnen ist, unterscheidet sich von der nächst verwandten Form *M. Larici-Retusae* Ed. Fischer<sup>1)</sup> auffällig dadurch, daß auf den 8 Versuchspflanzen mit *Salix retusa* und *S. serpyllifolia*, die zusammen über 400 Blätter besitzen mochten, nie das kleinste Uredolager auftrat, während dicht daneben auch das letzte Blatt von *S. reticulata* voll Uredo hing.

Drei bis vier Wochen nach der *Caeom*-infektion traten die ersten Teleutosporenlager auf, die rasch den Uredo verdrängten, während bei Parallelversuchen mit *Melampsora Evonymi-Incanae* und *M. Ribesii-Grandifoliae* unter völlig gleichen äußeren Bedingungen die Teleutosporenbildung nach 7 Wochen noch nicht begonnen hatte. Ed. Fischer<sup>2)</sup> hat vor kurzem neuerdings auf den von Magnus<sup>3)</sup> und Johanson<sup>4)</sup> hervorgehobenen Umstand hingewiesen, daß in der alpinen Uredineenflora die Rostpilze mit stark reduziertem Entwicklungsgang relativ am stärksten vertreten sind. Diese Erscheinung ist wahrscheinlich als Anpassung an die Verkürzung der Vegetationszeit in der Alpenregion zu betrachten. Das frühzeitigere Auftreten der Teleutosporen von *M. Larici-Reticulatae* ist ebenfalls in diesem Sinne am einfachsten zu erklären.

Unsere Resultate in Verbindung mit den übrigen bisher über Weidenmelampsoren ausgeführten Untersuchungen ergeben also, daß bei großer morphologischer Uebereinstimmung viele Weidenrostpilze geographisch und klimatisch getrennter Gebiete — diejenigen Norddeutschlands, der schweizerischen Hochebene und der Alpenregion — sich biologisch völlig anders verhalten, daß hier also eine Analogie vorliegt zu der ungleichen Spezialisierung der *Puccinia graminis* in Schweden<sup>5)</sup> und Nordamerika<sup>6)</sup>.

1) Fischer, Ed., l. c.

2) Fischer, Ed., Die Uredineen der Schweiz. 1904. p. XIX ff.

3) Magnus, Berichte der deutschen bot. Ges. Bd. XI. 1893. p. 453 ff.; Hedwigia. Bd. XXXIX. 1900.

4) Johanson, Bot. Centralbl. Bd. XXVIII. 1886. p. 347 ff.

5) Eriksson, Ueber die Spezialisierung des Getreideschwarzrostes in Schweden und in anderen Ländern. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 590 ff.)

6) Carleton, Cereal rusts of the United States. 1899.

*Nachdruck verboten.*

## Zweiter Beitrag zur Kenntnis der Lebensbedingungen von Stickstoff sammelnden Bakterien<sup>1)</sup>.

[Aus dem Institut für Bodenlehre und Pflanzenbau der Landwirtschaftlichen Akademie Bonn-Poppelsdorf. (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Wohltmann.)]

Von Privatdozent Dr. Hugo Fischer, Bonn.

Die Abhandlung ist Fortsetzung und Schluß zu einer anderen, die in Band XIV, p. 33 und 34 dieses Centralblattes referiert wurde. Das Ergebnis bezüglich Vorkommens des *Azotobacter chroococcum* Beijerinck in kalkreicherem Boden, sein Fehlen bei Kalkmangel war das gleiche wie in jener ersten Arbeit.

Eine Versuchsreihe wurde am 24. Januar 1905 begonnen, mit Boden aus den Streifen:

- II ungedüngt,
- IV mit Aetzmagnesia gedüngt,
- VI „ Kainit gedüngt,
- VIII „ Aetzkalk + Doppelsuperphosphat gedüngt,
- IX „ Aetzkalk + Kainit gedüngt,
- XI „ Doppelsuperphosphat + Kainit gedüngt.

Aus VIII und IX ging *Azotobacter* auf, aus den übrigen nicht.

Am 27. Februar wurde die letzte Reihe in Angriff genommen, die Streifen:

- X mit Aetzmagnesia + Kainit gedüngt,
- XIV „ Aetzkalk, Magnesia, Phosphat, Kainit und Chilisalpeter gedüngt,
- XV „ Aetzkalk + Chilisalpeter gedüngt,
- XVI „ Phosphat + „ „
- XVII „ Kainit + „ „

Hier fehlte *Azotobacter* in Streifen X, trat aber in den anderen auf, nicht nur in den gekalkten XIV und XV, sondern auch, und sogar besonders reichlich, in den ungekalkten XVI und XVII; diese beiden sind aber von Natur kalkhaltiger als die übrigen, durch eine im Boden hinziehende und ebendort ihre Grenze erreichende Lössschicht. Die Regel war also durchaus bestätigt, daß das Vorkommen von *Azotobacter* an einen Minimalgehalt des Bodens an Kalk, vermutlich etwa 0,1 Proz. CaO, gebunden ist; ob Magnesia den Kalk würde vertreten können, ist aus den vorliegenden Versuchen nicht zu ersehen, da Magnesia in weit geringerer Gabe verabreicht war als Kalk: in 10 Jahren von ersterer 1000 kg, von letzterem 4250 kg auf  $\frac{1}{4}$  ha Phosphor und Kali ohne Kalk (wie in Streifen XI) genügen ihm augenscheinlich nicht.

*Azotobacter chroococcum* tritt in üppig wachsenden Kulturen oft in Streptokokkenform, bis zu 16 Zellen in einer Kette, auf; früher oder später beginnt der Uebergang dieser Ketten in die sonst typische Sarcina-Form. Aeltere Zellen sind oft reich an „metachromatischen Körnchen“, welche die Volutinreaktion nach A. Meyer geben: mit Methylenblau gefärbt und mit 1-proz. Schwefelsäure ausgewaschen, erscheinen sie tiefblau im sonst farblosen Präparat.

1) Erscheint ausführlicher im Journal für Landwirtschaft.

Das überaus üppige Wachstum auf Gipsplatten (vergl. v. Freudenreich, dieses Centralbl. Abt. II. Bd. X) konnte bestätigt werden; die von Beijerinck (ebenda, Bd. IX) aufgestellte Meinung, *Azotobacter* assimiliere selbst nicht den molekularen Stickstoff, sondern lasse dies durch andere Bakterien tun und wirke seinerseits nur als Eiweißspeicher, hat nach einigen diesbezüglichen Beobachtungen wenig für sich (vergl. dazu auch Alf. Koch, in Verhandlungen der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Aerzte 1902, und v. Freudenreich, a. a. O.).

Verf. schließt mit einer Betrachtung über den praktischen Wert einer „Düngung“ mit stickstoffsammelnden Bakterien: Der *Azotobacter chroococcum* ist nachweislich sehr austrocknungsfähig (über 1 Jahr trocken gelegene Kulturen gingen nach Uebergießen mit neuer Nährlösung noch üppig auf!) und ist darum zweifellos leicht durch den Wind übertragbar, zumal im gegebenen Falle, wo die 17 Parzellen als Streifen von je 5 m Breite nebeneinander liegen, gekalkte zwischen ungekalkten; trotzdem ergab sich ausnahmslos sein Fehlen oder mindestens starkes Zurücktretreten in allen kalkarmen Böden, während er in den kalkreicheren Streifen in Menge vorhanden war, ohne doch jemals künstlich hineingebracht worden zu sein. Daraus folgt, daß die Uebertragung eines Keimes dann unmöglich von Erfolg sein kann, wenn er nicht den ihm zusagenden Boden vorfindet; er wird darin zu Grunde gehen, wie irgend eine Pflanze, die unter nicht zusagende Lebensbedingungen gebracht wird. Ist der Boden aber seiner Entwicklung günstig, dann wird sich der betreffende Spaltpilz wenigstens mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit von selbst einstellen; hier kann Zuführung bestimmter Keime vielleicht einigen Erfolg haben. Die bloße Impfung in ungeeigneten Boden ist jedenfalls von vornherein aussichtslos. — Die Ziele der praktischen Bodenbakteriologie lassen sich in zwei Fragen zusammenfassen:

Welche Bakterienarten bzw. welche Kombinationen sind als nützlich, welche als schädlich anzusehen?

Wie stellen wir im Boden die Bedingungen her, unter welchen die nützlichen zur reichsten Entwicklung gelangen und zugleich die schädlichen nach Möglichkeit zurückgehalten werden?

Nur unter stetiger Berücksichtigung der letzteren Frage können Untersuchungen über die erstere praktischen Erfolg haben.

*Nachdruck verboten.*

## An electrically controlled low temperature incubator <sup>1)</sup>.

By L. A. Rogers,

Bureau of Animal Industry, U. S. Department of Agriculture.

With 3 Figures.

When gelatin is used in warm climates some device is necessary for maintaining a temperature below the melting point of the gelatin. Even

<sup>1)</sup> Published by permission of Dr. D. E. Salmon, Chief of Bureau of Animal Industry, United States Department of Agriculture.



in temperate climates the temperature of the laboratory frequently goes above this point. A refrigerator with a small piece of ice, which is frequently used, gives an uncertain temperature and requires constant attention. Numerous devices have been designed to secure a constant temperature lower than that of the surrounding atmosphere but most of these have been so complicated that they have not come into general use.

The work of the writer, requiring the extensive use of gelatin plates in a warm climate has resulted in the construction of a low temperature incubator consisting essentially in (1st) an arrangement to lower the temperature of the incubator to some variable point below the desired temperature, and (2nd) an electrical apparatus to heat the incubator and to maintain it at any temperature required.

This arrangement has been in use in the Biochemic Division of the Bureau of Animal Industry in Washington for nearly a year with excellent results. The cost of construction was comparatively low. A small refrigerator may be adapted by putting in an insulating partition between the ice box and the lower chamber. A five-eighths inch lead pipe is coiled in the bottom of the ice box (*C*, fig. 1) and in the lower chamber (*DD*), preferably at the top or back. The ice rests directly on the coil *C*. This coil should be connected as shown in fig. 1, with a small reservoir (*A*) containing a float valve, to insure a constant pressure. The other end of the pipe, after rising at least to the level of the coil in the ice box, is connected with the waste. The flow of water is controlled by a valve (*B*) below the reservoir. A very slow current of water through these coils will reduce the temperature of the lower chamber below 20° C without unnecessary waste of ice.

The temperature may then be raised and maintained at any desired point by an electrical device, if a lighting current is available. The electrical apparatus used by the writer, which was constructed almost entirely from material at hand in the laboratory, consisted of a resistance coil for heating, a bimetallic regulator connected with a low voltage circuit obtained from resistance coils, and a circuit breaker operating the heating circuit.

For the regulator any two metals shewing a marked difference in their coefficient of expansion may be used. Other things being equal the sensitiveness of the regulator will be in direct ratio to the difference in their coefficients of expansion. Hard rubber with brass is very efficient but cannot be used at the higher temperatures on account of the gradual change in the rubber due to the heat, finally resulting in an apparent negative coefficient of expansion. The rubber should be very much thicker than the brass. In the rubber-brass regulators used by the writer the rubber was one-fourth inch and the brass less than one-sixteenth inch thick. A very satisfactory regulator may be made from invar, a nickel-steel alloy having almost no coefficient of expansion, and brass having a coefficient of 0.00002 per degree Centigrade. The one used by the writer was made from two strips of brass and invar each  $\frac{1}{8} \times \frac{1}{2} \times 15$  inches, riveted together and attached firmly at one end to a block of hard rubber, as shown in fig. 2. The other end of the bar moves freely over a similar hard-rubber block to which is fastened the screw closing the circuit. The point of this screw and the surface of the bar where the contact is made should be of platinum to prevent oxidation. The adjustment of temperature is secured by movement of this screw.

The bar may be lengthened and the sensitiveness of the regulator increased accordingly by using two bars fastened together at one end so that they are in the same plane but with the relative positions of the two metals reversed. This brings the free end of the second bar back to the attached end of the first and makes it necessary to use one rubber block only.

The regulator should be supported on rubber bands or small spiral springs attached to the wood base to reduce the vibration of the bar and the consequent sparking when the contact is made or broken.

If a high voltage current, such as is necessary for heating, is passed through the regulator the tendency to form an arc when the circuit is broken is so great that it is advisable to introduce some device operated

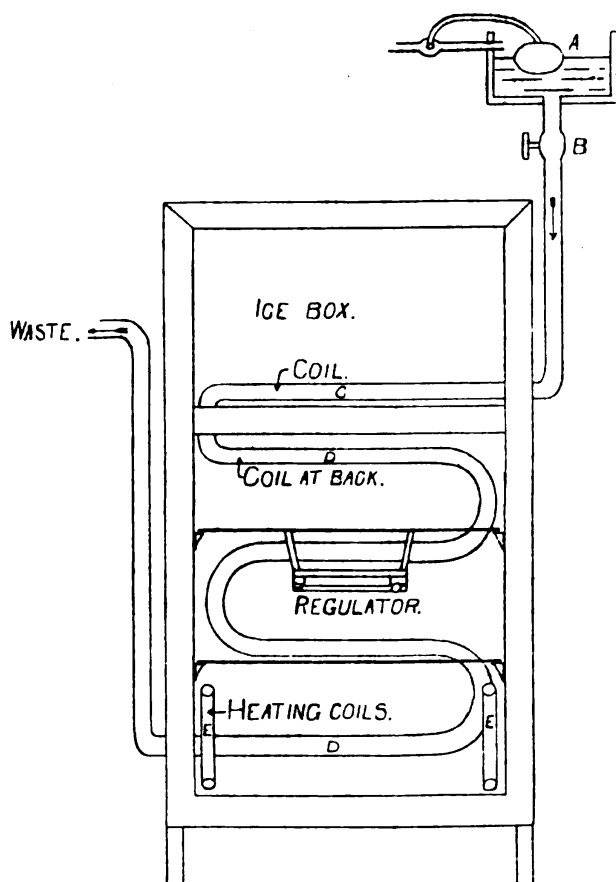


Fig. 1.

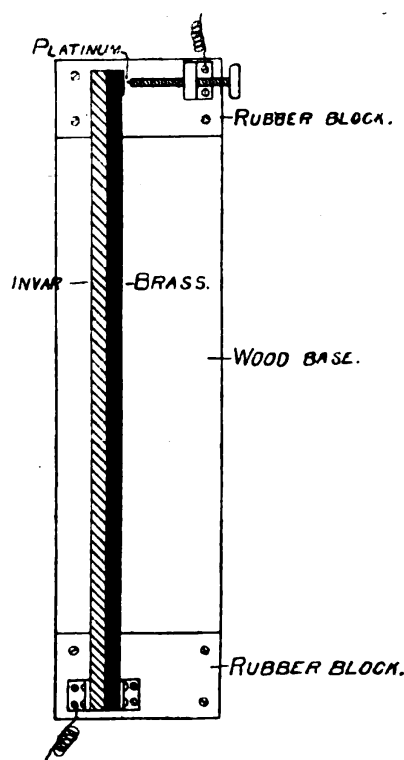


Fig. 2.

by a low voltage current to break the heating circuit suddenly. This current may be obtained from a battery, but this arrangement requires so much attention that a current from a series of resistance units, connected into the lighting circuit as shown in fig. 3, is more satisfactory. A 32 c. p. lamp (*A*) connected in series with a number of coils of small iron wire (*BB*) will answer this purpose, but thoroughly insulated resistance units made for this purpose may be obtained from any good electrical supply house. These are safer and obviate the necessity of replacing the lamp, which will usually burn out in six to eight weeks.

One connection for the low voltage current is made between the lamp

and the wire resistance. The circuit passes to the regulator (*C*) then through the magnet of the circuit breaker (*D*) and back to some point on the wire resistance. The resistance should be regulated by changing this connection (*H*) until it gives a current just sufficient to operate the magnet.

The circuit breaker may be made from the magnet of an old electric bell. The end of the armature should move about  $\frac{1}{4}$  inch and the contact at this point should be platinum. The regulator should be so arranged that the heating circuit is closed when the magnet pulls the armature (*F*) up against the binding post (*E*). If the heating circuit is closed by allowing the armature to drop into a cup of mercury or against a binding post, any failure of the magnet to work properly will leave the heating circuit closed and the temperature of the incubator may be carried above the danger point.

Lamps may be used for heating but on account of their tendency to burn out in a short time and of the space which they occupy, it will usually be advisable

to use some form of resistance coils. These may be made economically by winding small iron wire on a frame of glass rods. A safer and neater heater well adapted for this purpose may be obtained from the electrical supply houses.

The temperature of the incubator may be controlled without the use of heat by an arrangement to turn off and on the flow of cold water. This may be accomplished by a small reservoir with a thin partition dividing it into two parts. One side is connected with the coil in the ice box while the other runs directly to the waste. A small rubber tube connecting with the constant pressure reservoir (*A*, fig. 1) is allowed to hang loosely a little to one side of the partition. The armature of the magnet, connected with the regulator as in fig. 3, except that it should move in a horizontal plane, is fastened to the rubber tube. When the circuit is open the water flows into the side of the reservoir connecting with the waste; when the circuit is closed by the regulator the tube is pulled over so that the water falls into the other side of the reservoir and passes through the coils in the ice box and incubator. When the chamber is cooled to the desired point the circuit is broken and the water again flows directly to the waste pipe. Of course this is practicable only when the temperature of the room is above the temperature required in the incubator.

In the arrangement of this apparatus the writer has been under great obligations to Dr. L. J. Briggs of the Bureau of Soils for many suggestions and valuable assistance.

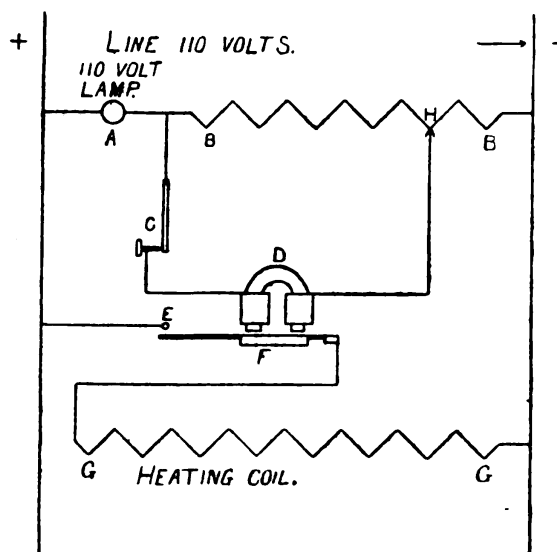


Fig. 3.

## Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Nachdruck verboten.

### Verhandlungen der 6. Jahresversammlung der Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen.

**Harding, H. A. und Prucha, M. J.** (Experimental Station, Geneva, N. J.),  
*Pseudomonas campestris* (Pam.) Smith.

*Pseudomonas campestris* (Pam.) Smith ist ein gelber Pflanzenschmarotzer, der keine Sporen bildet. Er greift Kohlrüben und Blumenkohl und ähnliche Pflanzen von ihrem Gefäßbündelsystem aus an.

Eine Untersuchung über seine Widerstandsfähigkeit gegen Austrocknen zeigte, daß er seine Lebensfähigkeit auf Kohlsamen über ein Jahr behielt, während er auf sterilen Deckgläschen binnen weniger Tage starb (bei unseren Versuchen überlebte er 10 Tage nicht). Scheinbar trat durch langes Einwirken ungünstiger Lebensbedingungen kein Verlust der Pathogenität ein. Mit Reinkulturen, die man 13 Monate nach der Infektion von Samenkörnern bekam, geimpfte Kohlpflanzen zeigten nach 16 Tagen Schwärzung der Adern im Blatt und andere Krankheitszeichen.

Zu einer Zeit, wo so viel Nachdruck gelegt wird auf die Schnelligkeit, mit der pathogene Mikroorganismen in der Natur zerstört werden, können diese Beobachtungen dazu dienen, vor voreiligen Verallgemeinerungen zu warnen.

(Soll ausführlich im Centralblatt für Bakteriologie u. s. w., Abt. II, veröffentlicht werden.)

**Chester, F. D.** (Delaware Agricultural College), Grundsätze für die Einteilung von Bakterien.

Soweit möglich, sollen morphologische Merkmale die Hauptgrundlage einer Einteilung sein. Das Artensystem von Migula wird empfohlen, das auf dem Merkmal der Geißelbildung beruht.

Bei sporenbildenden Bakterien ist die Art der Sporen, die Art und Weise der Keimung, die Form der Sporangien, und die Lage der Zellbestandteile taxonomisch zu verwerten. Bei den sporenlösen Bakterien muß sich die Gruppierung hauptsächlich auf physiologische Merkmale stützen.

Die empfohlene Einteilung der Arten in Gruppen gründet sich auf die hauptsächlichsten Merkmale in der angegebenen Weise.

1) Sporenbildung, 2) Beziehung zum Sauerstoff, 3) Verflüssigung von Gelatine, 4) Vergärung von Laktose, 5) Vergärung von Dextrose, 6) Vergärung von Saccharose, 7) Reduktion von Stickstoff und 8) Farbstoffbildung.

Jede Zusammenstellung der oben genannten Eigenschaften gibt einen Komplex von Merkmalen, der sich am besten durch eine Reihe von Ziffern darstellen läßt. Jede Ziffer stellt ein Merkmal dar, je nach der Wertigkeit. Wenn das Merkmal, das einer Ziffer entspricht, positiv oder negativ ist, so sind nur 2 Zahlen notwendig, nämlich 1 und 2, wobei 1 positiv und 2 negativ bedeutet. So wird Sporenbildung und Mangel an Sporen durch 1 und 2 an der Stelle der Hunderter ausgedrückt; Aërobismus mit fakultativem Anaërobismus einerseits und Anaërobismus andererseits durch 1 und 2 an der Stelle der Zehner, und Verflüssigung und Nichtverflüssigung von Gelatine an der Stelle der Einer, durch 1 und 2 ausgedrückt. Bei den Zehnteln, Hundertsteln und Tausendsteln

des Dezimalsystems werden 3 Zahlen gebraucht, von denen 1 Säure mit Gas und 2 Säure ohne Gas bedeutet, während 3 keine Säure von Dextrose, bezw. Laktose und Saccharose <sup>1)</sup> heißt. 1 und 2 an nächster Stelle bedeutet Reduktion oder Mangel von Reduktion, und an der weiteren Stelle geben die Zahlen von 0 bis 8 das Fehlen oder Vorhandensein von Farbstoff an, in der Reihenfolge, wie die Farben sich im Spektrum folgen, nämlich 0 nichtfarbstoffbildend, 1 fluoreszierend, 2 violett, 3 blau, 4 grün, 5 gelb, 6 orange, 7 rot, 8 braun. Auf diese Weise ist die Zahl für *B. coli* 212, 11110, die für *B. enteritidis* 212, 13310.

**Winslow, C.-E. A. und Rogers, Anne F.** (Massachusetts Institute of Technology), Eine Revision der Coccaceen.

Da der Ausgleich kleinerer Unterschiede durch geschlechtliche Fortpflanzung bei den Bakterien fehlt, besteht jede vererbare Abweichung fort, und anstatt wirklicher Arten finden wir eine unendliche Menge nur wenig unterschiedener, aber konstanter Arten. Die einzige praktische Methode, diese zu behandeln und in ein System zu bringen, ist, gewisse wohlunterschiedene Gruppen oder Typen aufzustellen, um die sich die weniger individuellen Abweichungen gruppieren lassen. Die Mehrzahl der veröffentlichten Artbeschreibungen unter den Kokken beruht entweder auf veränderlichen oder auf isoliertstehenden und unwichtigen Merkmalen. Verf. fand, daß 445 beschriebene Arten auf 31 zurückgeführt werden können. Diese werden in 2 Unterfamilien und 5 Arten gruppiert, die die Uebergänge von streng parasitischen Zellpaaren, wie *D. Weichselbaumii* und streng saprophytischen Organismen in großen Wachstumshaufen, wie *Ascococcus mesenteroides* bezeichnen. Die Hauptgruppen lassen sich folgendermaßen abgrenzen:

Familie Coccaceen.

Vegetative Zellen kugelig.

Unterfamilie I. Paracoccaceen (neue Unterfamilie).

Parasiten (wachsen nur oder am besten im tierischen Körper); wachsen gut unter anaëroben Verhältnissen. Viele Formen wachsen auf künstlichen Nährböden nicht, keine zeigt ausgedehntes Oberflächenwachstum. Teilungsebenen im allgemeinen gleichlaufend, Paare oder kurze oder lange Ketten bildend.

Art 1. *Diplococcus* (Weichselbaum).

Strenge Parasiten; nicht oder nur schwach auf künstlichen Nährböden wachsend; Zellen gewöhnlich paarweise, von einer Kapsel umgeben.

Art 2. *Streptococcus* (Billroth).

Parasiten. Zellen gewöhnlich in kurzen oder langen Ketten (unter ungünstigen Kulturbedingungen bisweilen in Paaren und kleinen Gruppen, nie in großen Gruppen oder Paketen). Auf Agarstrich ausgefrantes, durchscheinendes Wachstum oft in isolierten Kolonien. In Stichkultur geringes Oberflächenwachstum. Vergärt Zucker unter Säurebildung.

Unterfamilie II. Metacoccaceen (neue Unterfamilie).

Fakultative Parasiten oder Saprophyten. Wachsen am besten unter aëroben Verhältnissen. Wachsen gut auf künstlichen Nährboden, zeigen üppiges Oberflächenwachstum. Teilungsebenen oft rechtwinkelig; Zellen in Gruppen, Paketen oder Zooglöamassen angeordnet.

1) Anmerkung des Uebersetzers: In dieser von der obigen verschiedenen Reihenfolge.

**Art 3. Micrococcus (Hallier) Cohn.**

**Fakultative Parasiten oder Saprophyten.** Zellen in Scheiben oder unregelmäßigen Massen (nie in langen Ketten oder Paketen). Säurebildung verschieden.

**Art 4. Sarcina (Goodsir).**

Teilung, ob saphrophytisch oder fakultativ parasitisch, unter günstigen Bedingungen in drei Ebenen, wobei regelmäßige Pakete entstehen. Gewöhnlich wird Säurebildung durch Vergärung von Zucker vermißt.

**Art 5. Ascococcus (Cohn).**

Gewöhnlich saphrophytische Zellen, eingebettet in große unregelmäßig gelappte Massen von Zooglōa, bei Anwesenheit von Kohlehydraten. Bilden meist Säure.

Die ausführliche Arbeit (vorläufige Mitteilung) soll in „Science“ veröffentlicht werden.

**Copeland, Wm. R. und Boynton, Perkins** (Columbus, Ohio), Diagnostischer Wert der roten Farbe, die sich bei Zusatz von Natronlauge zu Glukoselösungen nach Gärung entwickelt.

Gewisse Mitglieder aus der Gruppe der Farbstoffbakterien bilden in Glukoselösungen eine Substanz, die auf Zusatz von Natronlauge (NaOH) eine ziegelrote Farbe gibt, wenn das Alkali 24 Stunden mit der gegorenen Bouillon in Berührung bleibt.

Die Glukoselösung, die bei diesen Versuchen angewendet wurde, enthält:

Fleischextrakt, aus frischem, gutem Beefsteak hergestellt	1000 ccm
Pepton, bestes weißes trockenes von Witte	10 g
Kochsalz	5 g
Wasserfreie Glukose	10 g
Reaktion (auf Phenolphthalein bezogen)	1 Proz. sauer.

Die Natronlauge enthält 20 g der besten Marke „NaOH in Stäben“, gelöst in 1000 ccm Wasser.

Die Gärung durch die Bakterien findet 48 Stunden lang bei einer Temperatur von 37° C statt. Der Bacillus, der die Bildung der roten Farbe fertig bringt, ist dem Bacillus cloaceae von Jordan und dem Bacillus Zeae von Moore ähnlich.

Das von Dr. Theobald Smith als typischer „Bacillus coli communis“ beschriebene Bakterium gibt Reaktionen, die in jeder Weise deutlich von den vom B. cloaceae gegebenen Reaktionen abweichen. Da der Colonbacillus in Glukoselösungen nie die rote Farbe erzeugt, und der B. cloaceae es tut, ist das Auftreten einer stark ziegelroten Farbe in einem Glukosegärröhrchen, das man mit einer 2-proz. NaOH-Lösung versetzt und 24 Stunden im Brutschrank belassen hat, als Beweis dafür anzusehen, daß die Bakterien in dem Smithschen Röhrchen B. cloaceae und nicht B. coli communis sind.

**Smith, Erwin F.** (U. S. Department of Agriculture), Vorführung von Kulturen auf Stärkegelée und auf Silikatgelée.

Diese Nährböden werden für verschiedene Zwecke empfohlen. Die Zubereitung des ersteren ist beschrieben in: Proc. Boston (1898) Meeting, Am. Assoc. Sci.; die des zweiten wird im ersten Bande von des Verf. Monographie über bakterielle Pflanzenkrankheiten (Carnegie Institution) beschrieben werden. Mit dieser Methode kann man leicht ein glycerinfreies Silikatgelée herstellen, das zugleich eine feuchte und glatte (nicht zerrissene) Oberfläche hat, und für die Kultur vieler Bakterien

sich gut eignet, für andere aber gar nicht. Die verwendeten Nährsalze sind dieselben wie bei der Lösung von Fermi.

**Hill, H. W.** (Boston Board of Health Laboratory), Einführende Bemerkungen über die Morphologie der Bakterien.

Verf. weist auf den chaotischen Zustand in der Erkenntnis der Morphologie hin, und auf die Schwierigkeit, zu bestimmen, was die normale Morphologie der Bakterien ist, unterstützt die Annahme künstlicher Maßstäbe für zeitweiligen Gebrauch, und dringt sehr auf eingehendere Beobachtung jeder Phase der Morphologie, als ihr bisher im allgemeinen geschenkt worden ist, als einer Grundlage für eine genauere theoretische Kenntnis der Morphologie. Er empfiehlt auch eine aufmerksame direkte dauernde Beobachtung der Bakterien durch das Mikroskop während des Teilungsvorganges, der Sporenbildung, der Sporenauskeimung u. s. w.

**Jones, Mabel** (University of Chicago), Ein eigentümliches *Spirillum*, das Rosettenbildung zeigt.

Der fragliche Mikroorganismus wurde im Oktober 1904 aus der Chicagoer Wasserleitung und auch aus den Abwässern von Chicago isoliert.

Der Mikroorganismus ist ein kurzes, ziemlich plumpes „Komma“, mit spitzen Enden, und wächst häufig in geraden oder spiralen Fäden oder bildet S-förmige Figuren und Halbkreise.

Es besteht eine eigenartige Neigung, sich endlich zu Rosettenbildungen zu vereinigen. Die Gruppierung wird auf Deckglaspräparaten beobachtet und ist sichtlich die Folge einer gleichmäßigen Gruppierung der Nachkommen eines einzelnen Individuums und keineswegs eine Agglutinationerscheinung. Die Geißeln, die nach der Mitte der Rosette zeigen, färben sich mit den gewöhnlichen Farben, und verstärken noch den eigenartigen Eindruck, den das Bild dieser *Chrysanthemum*-ähnlichen Büschel macht.

Glukose-Agar scheint unter anaëroben Bedingungen die Bildung von Rosetten zu begünstigen.

(Wird wahrscheinlich im Centralblatt für Bakteriologie u. s. w. veröffentlicht werden.)

**Sullivan, M. H.** (Brown University), Der Stoffwechsel farbstoffbildender Bakterien.

I. Biochemische Untersuchungen finden am besten mit einfachen, synthetischen Nährböden statt.

II. Manche Bakterien zeigen auf synthetischen Nährböden nur eine geringe Wachstumsfähigkeit; wahrscheinlich läßt sich die Fähigkeit, auf solchen Nährböden zu wachsen, steigern; so kann man den Nährboden dem Mikroorganismus anpassen, oder den Mikroorganismus an den Nährböden gewöhnen.

III. Viele Bakterien lassen sich leicht auf synthetischen Nährböden züchten.

IV. Von diesen leicht auf solchen Nährboden wachsenden, habe ich für meine Versuche ausgewählt: *B. pyocyaneus*, *B. prodigiosus*, *B. ruber balticus*, *B. rosaceus metalloides*, *B. violaceus*, *B. janthinus*.

V. Diese Bakterien lassen sich züchten mit oder ohne Farbstoffbildung.

VI. Gleichviel ob sie Farbstoff bilden oder nicht, so geben diese farbstoffbildenden Bakterien doch immer dieselben Stoffwechselprodukte, soweit dieselben analysiert worden sind, wie Säuren, Ammoniak, Alkohol, Benzolderivate und Eiweißkörper.

VII. Die Stoffwechselprodukte sind folgende:

B. prodigiosus: Aldehyde, Ameisen-, Essig- und Zitronensäure,	Albumin
B. rosaceus metalloides: Ameisen- und Essigsäure,	"
B. ruber balticus: Ameisensäure,	"
B. violaceus: Aldehyde, Ameisensäure,	"
B. janthinus: Ameisensäure,	"
B. pyocyaneus: Aldehyde, Ameisensäure, Merkaptan, H <sub>2</sub> S,	"

**Rettger, L. F.** (Sheffield Scientific School, Yale University), Ueber den Antagonismus von Bakterien und ihren Produkten gegenüber anderen Bakterien.

Große Beachtung ist in den letzten Jahren dem Einfluß geschenkt worden, den ein Mikroorganismus auf das Leben und das Wachstum eines anderen auszuüben imstande ist. Wir haben dadurch erfahren, daß gewisse Bakterien aus ihrer Vereinigung Vorteil ziehen. Andererseits gibt es viele Beispiele, daß die Gegenwart eines Organismus oder seiner Produkte ungünstig auf die Entwicklung eines anderen einwirkt. Zum Beispiel hat man gefunden, daß der *Pyocyaneus* direkt als Antagonist gegenüber dem Milzbrandbacillus wirkt. Und zwar gilt dies nicht nur von den lebenden Bacillen selbst, sondern auch von gewissen ihrer Produkte. Emmerich und Loew wollen mit Erfolg Kaninchen gegen Milzbrand immunisiert haben durch Anwendung ihrer sogenannten „Pyocyanase“, die sie aus alten Bouillonkulturen von *B. pyocyaneus* hergestellt haben.

Bei Versuchen über die chemischen und physiologischen Eigenschaften des *B. prodigiosus* und seiner Produkte beobachtete ich unter anderem, daß sterile Kulturen oder Präparate des *Prodigiosus* eine starke Schutzwirkung gegenüber experimentellem Milzbrand ausübten, wenn man sie in kleinen Mengen unter die Haut oder in die Bauchhöhle von Meerschweinchen einspritzte. Von 9 Versuchen, die im ganzen ausgeführt wurden, erzielten 7 ein stark positives Resultat; beim 8. starb das Tier wegen zu hoher Dosierung des *Prodigiosus*-Materials; und beim 9. blieben das *Prodigiosus*- und das Kontrolltier beide am Leben zufolge einer zu geringen Zahl der eingespritzten Milzbrandbacillen (47). Bei 6 von den 7 Versuchen, die ein positives Resultat hatten, wurde das Leben des Meerschweinchens um 14, bzw. 24, 25, 26 und 27 Stunden verlängert, während beim 7. sich das Tier vollkommen wieder erholte.

Das zur Einspritzung verwendete *Prodigiosus*-Material wurde von Kartoffelkulturen des *Prodigiosus* gewonnen. Die Kulturen wurden abgeschabt und unter Chloroform 24 Stunden stehen lassen. Nach Trocknung in einem Saugexsiccator wurde die Masse zu einem feinen Pulver zerrieben. Bestimmte Mengen dieses „*Prodigiosus*-Pulvers (0,05 bis 0,1 g) wurden mit 10 ccm steriler physiologischer Salzlösung gemischt, und nach Filtration durch lockere Verbandwatte wurden bestimmte Mengen der Suspension injiziert, gewöhnlich unter die Bauchhaut und in möglichster Nähe der Milzbrandinjektionsstelle.

Zur Impfung mit Milzbrand wurden junge Agarkulturen verwendet.



Die Bacillen wurden in physiologischer Salzlösung suspendiert und ihre Zahl annähernd durch Verwendung von Agarplatten bestimmt. Die Impfung mit Milzbrand wurde unter der Bauchhaut ausgeführt. Bei allen Versuchen wurden Kontrolltiere verwendet.

Obgleich steriles *Prodigiosus*-Pulver so eine deutliche Schutzwirkung gegenüber Milzbrand ausübt, stellt sich seiner Anwendung zu praktischen Immunisierungen ein ernstes Hindernis in den Weg. Es hat eine so hochgradig giftige Wirkung bei der Injektion, daß nur ganz kleine Mengen ohne ernste Gefährdung des Tieres verwendet werden können. Versuche, die in der Richtung angestellt wurden, die giftigen Eigenschaften der *Prodigiosus*-Produkte zu zerstören, ohne ihre Schutzwirkung zu vermindern, haben den gewünschten Erfolg nicht gehabt.

**Marshall, C. E.** (Michigan Agricultural College), Gemeinsame Einwirkung von Bakterien auf die Säuerung der Milch.

Verf., der mit Mischkulturen von Bakterien arbeitete, die aus dem *B. acidilactici* und einem aus Milch gezüchteten und noch nicht beschriebenen *Bacillus* bestehen, der eine ausgesprochen proteolytische Wirkung beim Wachstum auf Milch ausübt und in alten Kulturen eine deutlich ausgesprochene alkalische Reaktion hervorbringt, hat zeigen können, daß, wenn dieser proteolytische Mikroorganismus außer den Milchsäurebakterien vorhanden ist, die Gerinnung bei 20° C um fast 96 Stunden beschleunigt wird; daß der Säugegrad hoch über den vom Milchsäurebacillus erzeugten steigt, daß diese Veränderungen sich durch Betrachtung der Kultur mit bloßen Augen feststellen lassen, und weiter, daß der Milchsäurebacillus sich viel schneller entwickelt, wenn er mit diesem proteolytischen Keim gemischt ist, als wenn er in Reinkultur ist. Er hat auch gefunden, daß die von dem proteolytischen *Bacillus* gebildeten Produkte beständig sind und die gleiche Wirkung ausüben können, wie die Gegenwart der lebenden Keime. Analysen von Kulturen verschiedenen Alters zeigen, daß die das Wachstum des Milchsäurebacillus beeinflussenden Produkte entweder Amido- oder Ammoniakverbindungen sind. Synthetische Nährböden wurden versucht, aber so weit ohne befriedigenden Erfolg.

Es läßt sich also sagen, daß sich eigentümliche Einflüsse auf die Gerinnung ausüben lassen bei frischer Milch von der Kuh weg und dann auch bei verschieden alter. Dies kann gewisse eigentümliche, bei der Züchtung von Bakterien in verschiedenen Milchproben gewonnene Kulturresultate erklären. Die Beschreibung der proteolytischen Keime und die ausführliche Arbeit wird in nächster Zeit im Centralblatt für Bakteriologie Abt. II veröffentlicht werden.

**Bergey, D. H.** (University of Pennsylvania), Die bei Eiterungen vorkommenden Bakterien.

Bei der Untersuchung von Eiter durch die Studenten im Laboratorium habe ich die Erfahrung gemacht, daß häufig Bakterien angetroffen wurden, die nicht richtig unter die eitererregenden Mikroorganismen eingereiht sind. Die Häufigkeit, mit der gewisse von diesen Mikroorganismen angetroffen wurden, und die Tatsache, daß einige davon vorher in eiternden Wunden angetroffen worden waren; daß Mikroorganismen von gleichen Eigenschaften bei katarrhalischer Eutererkrankung von Kühen gefunden worden waren, ferner die Tatsache, daß ähnliche Mikroorganismen in spontan bei Männern vorkommenden Abscessen gefunden worden waren, führten zu der Annahme, daß sie möglicherweise

unter gewissen Umständen in näherer Beziehung zur Eiterung stehen könnten, als vermutet worden war. Deshalb wurden Eiterproben aus dem Krankenhause von 30 Fällen der chirurgischen Abteilung entnommen. Außer den gewöhnlichen Eitererregern — wie Staphylokokken, Streptokokken und *Bacillus pyocyaneus* — wurde *Bacillus coli* einige Male gefunden; ein Mikroorganismus aus der Gruppe der Pseudodiphtheriebacillen und auch einer aus der *Proteus*-Gruppe wurde einige Male angetroffen, so daß es wahrscheinlich ist, daß diese nicht nur zufällige Verunreinigungen des Eiters waren. Inwieweit diese Mikroorganismen im stande sind, Eiterungen hervorzurufen, wenn sie allein sind, ist noch nicht vollständig untersucht. Auch ist ihr Einfluß auf die Vorgänge bei den Eitererregern noch nicht eingehend genug untersucht worden, um sichere Angaben zu machen. Die Häufigkeit jedoch, mit der diese Mikroorganismen unter den untersuchten Verhältnissen angetroffen werden, schien einen vorläufigen Bericht über die Versuche, soweit sie angestellt sind, zu rechtfertigen.

**Pammel, L. H.** (Iowa College of Agriculture), Bakteriologie der Wasserversorgung einiger Eisenbahnen.

Verf. berichtet über eine Prüfung von drei Wasserversorgungen von Eisenbahnen. Im allgemeinen sind die neueren Brunnen entlang der Linie der C. & N. W. R. R. tiefe Brunnen, 175—150 Fuß tief. In einigen Fällen hängt die Iowa-Eisenbahn von städtischen Wasserleitungen ab. Es ist interessant, festzustellen, daß in den wenigen Fällen, wo städtische Wasserleitungen benutzt werden, *B. coli communis* gefunden worden ist. Einige neue Arten wurden entdeckt, darunter eine rote *Planosarcine*. Die Durchschnittszahl an Bakterien schwankt zwischen 40—150, obwohl sie in einigen Fällen etwas höher ist. Die besten Erfolge wurden mit Lackmus-Laktose-Agar erzielt; die Gelatine ist ungenügend gewesen.

**Philbrick, B. G.** (Metropolitan Water and Sewage Board, Boston, Mass.), Veränderungen im Bakteriengehalt des Wassers beim Durchtritt durch ein Verteilungsreservoir.

Die mitgeteilten Angaben entsprechen einer regelmäßig ausgeführten wöchentlichen Analyse des ein- und ausströmenden Wassers des Chestnut-Hill-Reservoirs, die sich über einen Zeitraum von 10 Jahren hinzieht. Die Zahl der Bakterien im Einfluß ist gering, nur 220 im Durchschnitt, und wird durch Regenfall nicht merklich beeinflusst, da das Wasser beträchtlich gestaut wird und sedimentieren kann, ehe es diesen Ort erreicht. Der allgemeine Durchschnitt der Bakterien im Ausfluß beträgt 179, 82 Proz. der Einflußzahl, aber das Verhältnis schwankt in den verschiedenen Jahren zwischen 50 Proz. und 123 Proz. Betrachtet man den monatlichen Durchschnitt der zehn Jahre, so läßt sich eine Zunahme während des Durchflusses durch das Reservoir zur Frühlings- und Herbstübergangszeit feststellen, die das Verhältnis von Aus- zu Einfluß auf 123 Proz. im April und 134 im September steigert.

Während des Winters sinkt das Verhältnis von 96 Proz. im Dezember auf 71 Proz. im März und nach dem Frühlingsübergang steigt es von 69 Proz. bis 95 Proz. im August. Es scheint, als ob in einem Reservoir, das Wasser von ziemlich niedrigem Bakteriengehalt erhält, das Wachstum auf dem Boden des Reservoirs selbst und die Mischung seiner verschiedenen Schichten die Hauptfaktoren sind, die die Ausflußzahl bestimmen.

**Robin, A.** (Wilmington Water Department Laboratory), I. Demonstration eines wirksamen Wärmeregulators.

Der Thermostat besteht aus einem gewöhnlichen automatischen Gasbrenner, wie man ihn in Eisenwarenhandlungen bekommt, und ist mit einem Regulator verbunden, der nach dem Prinzip der Maximum- und Minimumthermometer mit drei Elektroden konstruiert ist, von denen die eine 38° C, die andere 37° C berührt und die dritte an der Krümmung der U-Röhre befestigt ist. Die Sprungfeder, die den Hahn des Gasbrenners öffnet und schließt, wird ein wenig zur Seite gebogen, so daß sie eine kleine Menge Gas ausströmen läßt, indem sie so die Funkenrolle überflüssig macht, die gewöhnlich zum Anzünden des Brenners verwendet wird. Zwei offene Batterien mit konstantem Strom liefern den notwendigen Strom. Wenn die Temperatur im Brutschrank 38° C erreicht, steigt das Quecksilber und löst einen Kontakt auf der schwarzen Seite aus, wodurch die Flamme automatisch zuge dreht wird. Wenn die Temperatur auf 37° C sinkt, löst die Quecksilbersäule auf der linken Seite einen Kontakt aus, und dreht die Flamme auf. So wird die Temperatur innerhalb eines Grades reguliert. Anstatt des Quecksilberregulators kann man auch einen aus dünnem Messing und Hartgummistreifen, die fest miteinander verbunden und zwischen zwei Kontaktpunkten angebracht sind, verwenden. Der metallische Thermoregulator ist in jedem Geschäft zu kaufen.

**II. Eine einfache Methode, anaerobe Platten herzustellen.**

Der Nährboden besteht aus Laktose-Agar, 1,2 Proz., der wie gewöhnlich zu Platten gegossen und auf einem ebenen Gegenstand erstarrt wird. Wenn er vollständig fest ist, werden 7 ccm einer Agarmasse, die aus 1,2 Proz. Agar in destilliertem Wasser besteht, auf jede Platte gegossen, wo sie ein festanhaltendes, durchsichtiges Häutchen bilden. Es wird auf einfache Weise dasselbe erreicht, was ein Glimmerplättchen leistet, jedoch mit dem Vorteile, daß das Agarhäutchen dichter anschließt, den Nährboden besser bedeckt und schnell verwendet werden kann.

**Gage, S. de M.** (Lawrence Experiment Station), Laboratorium-einrichtungen.

In den modernen öffentlichen Gesundheitsämtern wird oft eine große Menge regelmäßiger Arbeit mit beträchtlichen Einzelleistungen erfordert, und während eine Vermehrung der notwendigen Unterhaltungsmittel oft nicht erreichbar ist, wird gewöhnlich auf den Vorstand des Laboratoriums ein fortwährender Druck ausgeübt, den Arbeitskreis zu vergrößern und die Arbeitskräfte auszunutzen. Unter diesen Umständen ist es oft eine Aufgabe für den praktischen Bakteriologen, allen Anforderungen zu genügen und zu gleicher Zeit auch noch Versuche anzustellen. Die Lösung dieser Aufgabe liegt gewöhnlich darin, daß man die Arbeit systematisiert und arbeitsparende Methoden befolgt, wobei sich die für die regelmäßigen Arbeiten verwendete Zeit abkürzen läßt. Es ist die Absicht des Verf. bei der vorliegenden Mitteilung, einige der Laboratoriumseinrichtungen in der Lawrence Experiment Station in Hinsicht auf das fragliche System sowohl, als auch auf dort gebräuchliche, arbeitsparende Methoden zu beschreiben, unter folgenden Rubriken:

- 1) Die Apparate sollten bequem für den Gebrauch stehen.
- 2) Farbensystem und Röhrchen von verschiedener Größe zur Unterscheidung von Nährböden.

- 3) Flaschenfüllapparat für Auflösungen.
- 4) Apparat, um Impfnadeln während der Sterilisation zu halten.
- 5) Improvisierte Apparate.
- 6) System von losen Blättern zur Aufbewahrung von Protokollen.
- 7) Methode, um Proben von Untersuchungsstoffen und Versuchen aufzuheben.
- 8) Zahlensystem.

**Rogers, L. A.** (U. S. Bureau of Animal Industry), Eine einfache Methode, um die Fähigkeit von Bakterien, verschiedenen Zucker zu vergären, zu bestimmen.

In Bd. VII. p. 241 des Centralblattes für Bakteriologie, II. Abteil., beschreibt Lindner eine einfache Methode, um die Fähigkeit von Hefen, verschiedenen Zucker zu vergären, zu bestimmen. Diese Methode besteht hauptsächlich darin, daß man die Höhlung eines konkaven Glases mit sterilem Wasser füllt, mit Hefe beimpft, eine ganz kleine Menge Zucker zufügt und mit einem Deckglas bedeckt. Die Vergärung des Zuckers wird durch das Auftreten von Blasen unter dem Deckglas angezeigt.

Mit einigen unbedeutenden Abweichungen läßt sich diese Methode auf Bakterien anwenden. Zu diesem Zwecke wird zu zuckerfreier Bouillon Lackmus zugesetzt, bis sie eine tief blaue Farbe hat. Die zu prüfenden Zuckerarten werden zu einem Syrup verarbeitet und in kleinen Gefäßen sterilisiert. Die Objektträger und Deckgläschen werden in Petri-Schalen sterilisiert. Ein einzelnes Röhrchen der Lackmusbouillon wird mit dem zu prüfenden Mikroorganismus beimpft und einige Stunden bebrütet. Ein Ring von Vaseline wird um den Ausschiff des Objektträgers herumgelegt, so lange er noch warm ist, und die Höhlung mit der Kultur vollgefüllt. Eine Schlinge voll Zuckerlösung wird zu jedem zugesetzt und ein Deckglas sorgfältig über die Höhlung gedeckt und auf die Vaseline aufgedrückt, ohne daß man Luftblasen darunter kommen läßt. Den überfließenden Nährboden nimmt man mit Fließpapier weg. Nach einer gewissen Bebrütungszeit zeigt sich die Gärung der verschiedenen Zuckerarten durch das Auftreten von Gasblasen oder die Rötung des Lackmus oder beides an.

Die Vorzüge dieser Methode vor den gewöhnlichen Gärröhrchen sind die Schnelligkeit, mit der die Vergärung einer großen Zahl von Zuckerarten bestimmt werden kann, und die sehr geringen Ausgaben, die man für Zucker hat.

Bei den Gärröhrchen sind die Ausgaben für eine Bestimmung der Vergärung von selteneren Zuckerarten so groß, daß die Gärungsfähigkeit eines Mikroorganismus gewöhnlich nur für drei oder vier Zuckerarten angegeben wird.

Bei der Objektträger-Kulturmethode ist die verbrauchte Zuckermenge so gering, daß man immer eine kleine Menge gebrauchsfähig vorrätig halten kann, wodurch man der Notwendigkeit entgeht, eine große Menge verschiedener Nährböden vorrätig halten zu müssen.

Die Gefahr der Verunreinigung mag ein ernstes Hindernis erscheinen, aber bei genügender Sorgfalt ist sie sehr gering, und läßt sich auf ein Minimum zurückführen, wenn man einen Kasten zum Schutze für die Objektträger benützt. Eine für diesen Zweck geeignete Einrichtung ist eine Kiste mit Glasseiten nach dem Muster des Kastens einer Wage mit einer Schiebetür, so daß man die Objektträger ausschließlich mit den Vorderarmen im Innern des Kastens zurecht machen kann.

**Rickards, B. R.** (Boston Board of Health Laboratory), Eine einfache Methode, anaërobe Bakterien zu züchten.

Bei festen Nährböden wird ein wie gewöhnlich beimpftes schräg oder gerade erstarrtes Röhrchen verkehrt in ein mit alkalischer Pyrogallussäure gefülltes Gefäß getaucht. Platten werden hergestellt, indem man Erlenmeyersche Kölbchen statt Petri-Schalen verwendet, sie umkehrt und wie die Röhrchen eintaucht.

Bei flüssigen Nährböden verwendet man die Gärröhrchen von Lawrence, indem man die Flüssigkeit in den geschlossenen Schenkel laufen läßt, ehe man sie umkehrt, und die Oeffnung des Röhrchens in die Pyrogallussäure taucht.

(Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Originale Bd. XXXVI. p. 557.)

**Hill, H. W.** (Boston Board of Health Laboratory), Neue Apparate.

#### Poröse Deckel für Petrischalen.

Der poröse Deckel ist eine genaue Nachbildung des gewöhnlichen Glasdeckels in porösem Blumentopfton, und wird genau so verwendet wie dieser und ist ein Ersatz für ihn, nur daß er zwischendurch beim Gebrauch am besten nicht gewaschen wird.

Seine Aufgabe ist, die überflüssige Feuchtigkeit zu absorbieren, die sich beim Gebrauch von Glasdeckeln als Kondenswasser niederschlägt.

Bei ihrer Verwendung ist die Prozentzahl von „überschwemmten“ Platten, die bei der regelmäßigen Verarbeitung von Milch auf Agarplatten bei 37° C in einer gesättigten Atmosphäre sich fanden, von 38 Proz. bei Glasdeckeln (Platten verkehrt aufgestellt) auf 3 Proz. bei porösen Deckeln (Platten nicht verkehrt aufgestellt) herabgedrückt worden.

(Journal of Medical Research. Vol. XIII. 1904. p. 93.)

#### Färbung von Bakterien im mikroskopischen Gesichtsfeld.

Dies ist eine Vorrichtung, um Farben, Entfärbemittel, Beizen u. s. w. unmittelbar und leicht auf die Unterseite eines Deckglases, auf die ein Präparat ausgestrichen ist, zu bringen, so daß nacheinander in jeder Reihenfolge ein beliebiges Gesichtsfeld des Mikroskopes, während es beobachtet wird, gefärbt, entfärbt oder gebeizt werden kann, mit einer Einrichtung, daß durch einen Wasserstrahl überflüssige Lösungen abgespült werden können. Besonders wertvoll für Gramsche Färbung, Vergleichung verschiedener Färbungen u. s. w.

#### Methode, um Ausstrichpräparate für Geißelfärbung anzufertigen.

Der gewünschte Mikroorganismus wird auf Fleischbrühe gezüchtet, mit Rücksicht darauf, daß auf Fleischbrühe Geißeln besser entwickelt werden, als auf den gewöhnlich empfohlenen festen Nährböden. Um die Fleischbrühe von den Mikroorganismen zu entfernen, wird wiederholtes Zentrifugieren, Dekantieren und Zufügung destillierten Wassers oder gewöhnlicher Kochsalzlösung angewendet. Zahlreiche Versuche beweisen, daß das Zentrifugieren die Bacillen keineswegs ihrer Geißeln beraubt.

(Journal of Medical Research. Vol. XII. 1904. p. 97.)

**Smith, E. G.** (Massachusetts Institute of Technology), Mitteilung über den Abwasserbakterien ähnliche Formen, die in den natürlichen Wässern von Ost-Massachusetts vorkommen.

Verf. hat bei der Beobachtung der Bakterien in den natürlichen Wässern gefunden, daß ziemlich häufig Arten vorkommen, die in gewissem Grade die Eigenschaften der Colonbacillen teilen, und er weist darauf hin, daß diese Mikroorganismen bisweilen zu irrigen Schlüssen bezüglich der gesundheitlichen Beschaffenheit des Wassers führen können.

Prüfung von 100 Proben von aus vermutlich verunreinigten Quellen stammendem Wasser. Die Proben stammen aus Quellen und Bächen, öffentlichen Wasserleitungen, Teichen und anderer Herkunft, wo eine kurze persönliche Untersuchung der Umgebung ergab, daß sie für Verunreinigungen nicht zugänglich seien. Diese sind zum größten Teil im östlichen Teil von Massachusetts zerstreut. Die meisten Proben enthielten Formen, die die Gelatine so schnell verflüssigten, daß sie nach 48 Stunden bei 20° C eine Zählung der Anzahl unmöglich machten. Die wichtigste Tatsache ist bei diesen offenen Wässern das Vorwiegen von roten Kolonien, die sich auf Laktose-Lackmusagar entwickeln, indem 60 von den Proben deutliche rote Kolonien auf der Oberfläche oder in der Tiefe im Nährboden zeigen. Alle typischen Kulturen sind differenziert worden, und es fanden sich bei ihnen mehr oder weniger vollkommen die Eigenschaften des B. Coli. Offene Bäche, wie man sie zur Anlage von Staureservoirs verwendet, z. B. bei einem kleinen Bach, der durch Waldland und verlassene Weide, ohne Ackerland am Oberlauf, floß, wurden nicht weniger als sechs rote Kolonien im Kubikcentimeter gefunden, die sich als modifizierte Coli-Formen differenzieren ließen. Dagegen hat Verf. nur in zwei Fällen Streptokokken isolieren können, einmal in einem offenen Bach bei Whitman, Mass., und einmal bei der Mündung des Elmersbaches in South Hadley, einem berühmten Forellensbach. Keines davon ist ein verunreinigtes Wasser, wie wir den Begriff fassen, aber die ausgeführten Feststellungen sollten nicht als endgültig gelten, bis nicht weitere Untersuchungen der Umgebung alle Möglichkeiten einer Verunreinigung durch Tiere ausgeschlossen haben. So weit wir in diesen Untersuchungen gegangen sind, haben sich die Feststellungen Houstons als richtig herausgestellt. Es ist deshalb von Wichtigkeit, daß sorgfältige Untersuchungen über das Vorkommen von Streptokokkenformen in der Natur weiterhin angestellt werden. Jede erhebliche Verunreinigung natürlichen Wassers mit Fäkalbestandteilen zeigt diese Formen, die sich leicht auf Lackmus-Laktose-Agarplatten unterscheiden lassen; und wenn fortgesetzte Untersuchungen zeigen, daß sie in normalem Wasser nicht vorhanden sind, so ist ihre Bedeutung vom gesundheitlichen Standpunkte aus einleuchtend.

**Harrison, J. C. und Barlow, B.** (Ontario Agricultural College), Die Dampfdestillation.

**Prescott, S. C.** (Massachusetts Institute of Technology), Einige große, aber nicht kostspielige Brutschränke für Lehr- und Arbeitslaboratorien.

**Harding, H. A.** (Experiment Station, Geneva, N. Y.), Einige Versuche mit Proberöhrchen.

## Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

### Allgemeines.

- Galli-Valerio, Bruno**, Notes de parasitologie et de technique parasitologique. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 3. p. 230—247. 3 Fig.)  
**Lindner, Paul**, Die Entwicklung des Reinlichkeitsbegriffes auf Grund der mikroskopisch-biologischen Forschung. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 26. p. 357—360.)

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Bell, J. Finley**, A simple method of filtering agar. (Proc. of the New York pathol. Soc. T. IV. 1905. N. 8. 1 Fig.)  
**Buerger, Leo**, Eine neue Methode zur Kapselfärbung der Bakterien, zugleich ein Beitrag zur Morphologie und Differenzierung einiger eingekapselter Organismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 2. p. 216—224.)  
 —, Eine neue Methode zur Kapselfärbung der Bakterien; zugleich ein Beitrag zur Morphologie und Differenzierung einiger eingekapselter Organismen. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 3. p. 335—352. 3 Taf.)  
**Bulnheim, Gotthard**, Ueber neue Sterilisierungsgefäße, die sogenannten Dahlemer Doppel-töpfe. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XI. 1905. Heft 4. p. 85—87. 3 Fig.)  
**Kern, Ferdinand**, Ein neues Bakterienfilter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 2. p. 214—216. 1 Fig.)  
**Omeliński, W.**, Ameisensaures Natron enthaltende Bouillon als Nährboden zur differentiellen Diagnostik der Mikroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 22/23. p. 673—675.)  
**Proca, G. et Vasilescu, V.**, Sur un procédé de coloration rapide du Spirochaete pallida. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 23. p. 1044—1045.)  
**Rodriguez, L.**, De l'emploi de la pomme de terre violette comme milieu de culture. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 24. p. 56—57.)  
**Wichmann und Zikes**, Ein neues Verfahren zur Reinzüchtung von Hefe. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVIII. 1905. N. 31. p. 303.)

### Systematik, Morphologie.

- Appel, O. und Laubert, R.**, Die Konidienform des Kartoffelpilzes *Phellomyces sclerotiorum* Frank. [Vorl. Mitt.] (Ber. d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXIII. 1905. Heft 5. p. 218—220.)  
**v. Basarewski, S.**, Ueber zwei neue farbstoffbildende Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 1. p. 1—7.)  
**Baudisch, Fr.**, *Bostrichus curvidens* Germ., *Xyloterus lineatus* Oliv., *Pissodes piceae* Ill. und *Xylecoetus dermestoides* Fabr. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jg. XXXI. 1905. Heft 7. p. 294—287.)  
**Berghaus**, Die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen dem *Bacillus faecalis alcaligenes* und dem *Typhusbacillus*. (Hyg. Rundsch. Jg. XV. 1905. N. 15. p. 761—764.)  
**Borri, A.**, *Generi nuovi di Crococcaceae*. (Nuova Notarisia. Vol. XVI. 1905. p. 20—21.)  
**Bourguignon**, Formes microbienne du muguet. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 26. p. 187—188.)  
**Bréhon**, Fréquence de l'uncinaire et de quelques autres vers intestinaux dans une région du Bassin Houiller du Pas-de-Calais. (Arch. de parasitol. T. IX. 1905. N. 4. p. 540—545.)  
**Brian, Alexandre**, Nouveau copépode parasite. (Arch. de parasitol. T. IX. 1905. N. 4. p. 564—567. 9 Fig.)  
**Cligny, A.**, Sur un Lernaeenicus parasite du sprat. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 26. p. 165—166.)  
**Coustaing, A.**, L'acide borique est-il toxique? Thèse de Paris 1905. 8°.  
**v. Daday, E.**, *Nyctotherus piscicola* n. sp., ein neuer Fischendoparasit aus Südamerika. (Zool. Anz. Bd. XXIX. 1905. N. 8. p. 233—238. 4 Fig.)  
**De la Hoz, E. S.**, Champignons pathogènes et mycoses du continent américain. Thèse de Paris, 1905. 8°.  
**Dönitz, W.**, Die Zecken des Rindes als Krankheitsüberträger. (Sitzungsber. d. Ges. naturf. Freunde. 1905. N. 4. p. 105—134. 1 Taf.)

- Enderlein, Günther**, Ein neuer Floh vom dreibindigen Gürteltier. (Zool. Anz. Bd. XXIX. 1905. N. 5. p. 139—142. 6 Fig.)
- , Läusestudien 4. Ueber einen auffälligen Sexualdimorphismus bei *Polyplax spinulosa* (Burm.). Zool. Anz. Bd. XXIX. 1905. N. 6. p. 192—194. 4 Fig. [Läusestudien 3. ib. Bd. XXVIII. 1905. p. 626—638.]
- Edwards, Ralph T.**, *Bacillus mycogenes* (*Bacterium mucogenum*) nov. sp., an organism belonging to the *Bacillus mucosus capsulatus* group. (Journ. of inf. dis. Vol. II. 1905. N. 3. p. 431—435.)
- Elot, A.**, Note sur le *Physopus rubrocincta* Giard, Insecte nuisible au cacaoyer à la Guadeloupe. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 25. p. 100—102.)
- Fischer, E.**, Fortsetzung der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze. 14.—17. (Ber. d. Schweizer. bot. Ges. Jg. XV. 1905. 13 p.)
- French, H. S. and Boycott, A. E.**, The prevalence of *Trichocephalus dispar*. (Journ. of Hyg. Vol. V. 1905. N. 3. p. 274—279.)
- Geddoelst, L.**, Contribution à l'étude des larves cuticoles de muscides africaines. (Arch. de parasitol. T. IX. 1905. N. 4. p. 568—592. 6 Fig.)
- Griffiths, A. B.**, On *Micrococcus glutinis*: a news chromogenic microbe. (Chem. New. 1905. p. 97—98.)
- Gros, H.**, Sur l'unité des hématozoaires du paludisme. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 25. p. 80—81.)
- Gross, J.**, Bemerkungen über den Bau des Ovariums von *Ceratopsyllus canis*. (Zool. Anz. Bd. XXIX. 1905. N. 7. p. 229—232.)
- James, L. et Mandoul, H.**, Sur la spécificité des hôtes des cestodes. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 25. p. 104—106.)
- Laveran, A.**, Contribution à l'étude de grandes hémogregarines des grenouilles. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 26. p. 172—175. 9 Fig.)
- , Sur une hémogregarine de *Varanus niloticus*. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 26. p. 175—176. 6 Fig.)
- , Sur une hémogregarine des gerboises. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXLI. 1905. N. 5. p. 295—298. 9 Fig.)
- Lindinger, L.**, Zwei neue Arten der Coccidengattung *Leucaspis*. (Zool. Anz. Bd. XXIX. 1905. N. 8. p. 252—254.)
- v. Linstow**, Helminthologische Beobachtungen. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVI. 1905. Heft 3. p. 355—366.)
- Loos**, *Schistosomum japonicum* Katsurada, eine neue asiatische Bilharzia des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 3. p. 280—285.)
- Magnus, P.**, Die Pilze mit Berücksichtigung der durch sie veranlaßten Krankheiten der Kulturpflanzen. (Veranstaltungen der Stadt Berlin zur Förderung des naturw. Unterrichts in den höheren Lehranstalten im Jahre 1904—1905. 5. Bericht. Berlin 1905. p. 15—39.)
- Marais de Beauchamp, Paul**, Études sur les cestodes des sélaciens. (Arch. de parasitol. T. IX. 1905. N. 4. p. 463—539. 15 Fig.)
- de Marchis, F.**, Sui principii attivi della *Ustilago maydis*. Dubbi sull' esistenza di un alcaloide, l'*ustilagina* di Rademaker e Fischer. (Arch. Farmacol. Spec. e sc. aff. 1904. p. 265—270.)
- Montel, R.**, Trypanosome d'un poisson de Cochinchine. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 22. p. 1016—1017.)
- Neveu-Lemaire**, Sur un nouveau Acanthocéphale (*Echinorhynchus orestiae* n. sp.), parasite des poissons du genre *Orestias*. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 24. p. 31—32.)
- , Sur un nouveau moustique appartenant à la sous-famille des Anophelinae. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 24. p. 32—33.)
- Nicolle, C. et Comte, C.**, Sur le rôle possible de *Hyalomma aegyptium*, dans l'infection hémagrégarinienne de *Testudo mauritanica*. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 23. p. 1045—1046.)
- Nicolle, C. et Conte, C.**, Sur une nouvelle spirillose. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 26. p. 200—202.)
- Nielsen, J. C.**, Ueber die Entwicklung von *Agromyza carbonaria* Zett., der Urheber der „Markflecken“. (Zool. Anz. Bd. XXIX. 1905. N. 7. p. 221—222.)
- Omelianski, W.**, Ueber eine neue Art farbloser Thiospirillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 25. p. 769—772. 1 Taf.)
- Penel, R.**, Les filaires du sang de l'homme. Paris (Rudeval) 1905. 8°. 5,40 M.
- Pérez, Ch.**, Nouvelles observations sur le *Blastulidium paedophthorum*. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 22. p. 1027—1029. 2 Fig.)
- Plehn, Marianne**, *Sanguinicola armata* und *inermis* (n. gen. et n. sp.) n. fam. *Ryncho-stomida*. Ein endo-parasitisches Turbellar im Blute von Cypriniden. (Zool. Anz. Bd. XXIX. 1905. N. 8. p. 244—252. 8 Fig.)



- Sander, L.**, Die Tsetsen (Glossinae Wiedemann). [Forts.] (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. IX. 1905. Heft 7. p. 309 - 322. 2 Fig.)  
 —, Die Tsetsen (Glossinae Wiedemann). [Schluß.] (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. IX. 1905. Heft 8. p. 355—371. 1 Fig.)  
**Siccardi, P. D.**, L'ancylostoma americanum (Stiles). (Riforma med. Anno XXI. 1905. N. 25. p. 673—674.)  
**Thiroux, M.**, Un cas de Pentastomum constrictum observée au Sénégal. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 25. p. 79—80. 2 Fig.)  
**Tosh, James B.**, On the internal parasites of the Tweed Salmon. (Ann. and Mag. of nat. hist. Vol. XVI. 1905. N. 92. p. 115—119. 1 Taf.)  
**Vassal, J. J.**, Sur un nouveau Trypanosome aviaire. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 22. p. 1014—1016. 1 Fig.)  
**Ventrillon**, Culicides nouveaux de Madagascar. (Arch. de parasitol. T. IX. 1905. N. 4. p. 441—450.)  
**Voglino, P.**, Ricerche intorno allo sviluppo e parassitismo delle Septoria graminum Desm. e S. glumarum Pons. (Ann. Accad. Agr. Torino 46. 1904. p. 259—282.)

#### Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc).

- Albrecht, A.**, Ueber die Beteiligung von Hefen und Bakterien an der Säurebildung im Teige. Diss. phil. Würzburg, 1905. 8°.  
**Buchner, Eduard und Antoni, Wilhelm**, Weitere Versuche über die zellfreie Gärung. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVIII. 1905. N. 28. p. 275.)  
 — —, Weitere Versuche über die zellfreie Gärung. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XLIV. 1905. Heft 3/4. p. 206—228.)  
**Collina, M.**, L'azione degli alcaloidi sul movimento dei batteri. (Arch. Farmacol. speriment. e sc. aff. Vol. III. 1904. p. 411—419.)  
**Desmoulins, A. M.**, La regularisation de la fermentation. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 60. p. 237—238.)  
**Dubois, Raphael**, Sur le mécanisme de la biophotogenèse. Réponse à M. G. Nadson. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 23. p. 1043—1044.)  
**v. Euler-Chelpin**, Ueber Enzymreaktion. (Vortrag geh. i. d. chem. Ges. Stockholm. Chemiker-Ztg. 1905. N. 29. p. 534.)  
**Gosio, B.**, Indikatoren des Bakterienlebens und ihre praktische Bedeutung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LI. 1905. Heft 1. p. 65—125.)  
**Henneberg, W.**, Reinkultur in der Essigfabrik. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 22/23. p. 681.)  
 —, Bakteriologische Untersuchungen an säuernden und gärenden Hefenmaischen. (Ein Beitrag zur Kenntnis des Verhaltens des Bacillus Delbrücki bei verschiedenen Temperaturen.) (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVIII. 1905. N. 26. p. 253—254; N. 27. p. 261—262; N. 28. p. 271—272; N. 29. p. 282.)  
**Issajew, W.**, Ueber die Hefekatalase. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XLIV. 1905. Heft 5/6. p. 546—559.)  
**Löhnis, P.**, Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffbakterien. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 22/23. p. 713—725.)  
**Mac Conkey, Alfred**, Lactose-Fermenting bacteria in faeces. (Journ. of Hyg. Vol. V. 1905. N. 3. p. 333—379.)  
**Macé, E.**, De la décomposition des albuminoïdes par les Cladothrix (Actinomyces). (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLI. 1905. N. 2. p. 147—148.)  
**Malfitano, G. et Strada**, Evaluation du pouvoir protéolytique des bactéricides du charbon. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 25. p. 118—120.)  
 —, Des influences qui peuvent faire variable le pouvoir protéolytique des liquides en contact avec des bactéricides du charbon. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 25. p. 120—122.)  
**Malfitano, G. et Strada, F.**, Des variations dans l'activité protéolytique des bactéricides avec l'âge des cultures. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 26. p. 195—197.)  
 — —, Influence de l'aération des cultures sur le pouvoir protéolytique des bactéricides charbonneux. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 26. p. 197—198.)  
**Weisenheimer, Jakob**, Die Chemie der Gärungserscheinungen. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 30. p. 419—422.)  
**Roesler, L.**, Wie kann die bei der Gärung auftretende Kohlensäure, wie die Hefe selbst am zweckmäßigsten verwendet werden? (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXII. 1905. N. 28. p. 273—274.)  
**Schardinger, Franz**, Bacillus macerans, ein Aceton bildender Rottebacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 25. p. 772—781.)  
**Schorstein, Josef**, Zerstören die Pilze das Xylan? (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jg. XXXI. 1905. Heft 7. p. 281—282.)

- Wehmer, C.**, Versuche über Mucorineengärung II. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. Heft 1. p. 8—19.)  
 —, Ueber das Verhalten der Mucor-Arten gegen verdünnten Alkohol. (Ber. d. dtischen bot. Ges. Bd. XXIII. 1905. Heft 5. p. 216—217.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

#### Luft, Wasser, Boden.

- Benignetti, Diego**, Di un germe termofilo isolato dai fanghi d'acqui. (Riv. d'ig. e sanità pubbl. Anno XVI. 1905. N. 13. p. 449—455.)  
**Bodin, E.**, Les bactéries de lait, de l'eau et du sol. Paris 1905. 197 p. 8°. M. Fig.  
**Müller, O.**, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen im Trinkwasser mittels chemischer Fällungsmethoden, insbesondere durch Fällung mit Eisenoxydechlorid. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LI. 1905. Heft 1. p. 1—17.)  
 Neue Beispiele zur Trinkwasserbeschaffung und zur Abwässerklärung aus Thüringen. (Korresp.-Blätt. d. allg. ärztl. Ver. von Thüringen. Jg. XXXIV. 1905. Heft 6. p. 271—280. 1 Fig.)  
**Stoklasa, Julius und Ernest, Adolf**, Ueber den Ursprung, die Menge und die Bedeutung des Kohlendioxyds im Boden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 22/23. p. 723—736.)  
**Stregulina, Anna**, Ueber die im Züricher Boden vorkommenden Heubacillen und über deren Beziehungen zu den Erregern der Panophthalmie nach Hackensplitterverletzung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LI. 1905. Heft 1. p. 18—45. 1 Taf.)  
**Thomann**, Chemie und Bakteriologie im Dienste der Trinkwasserhygiene. [Mitt. d. naturf. Ges. Bern a. d. J. 1904. ersch. 1905. p. XIV—XV.]  
**Trillat, A.**, Sur la présence de la formaldéhyde dans l'air atmosphérique. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. XXVII. 1905. N. 6. p. 503—505.)

#### Nahrungsmittel.

- Goethe**, Die Erregung von Pflanzengiften durch Bacillen in Konserven. (Sauters Ann. Jg. XV. 1905. N. 8. p. 88—90.)  
**H.**, Zur Frage der Verwendung von schwefliger Säure. (Konserven-Ztg. Jg. 1905. N. 27. p. 301—302.)  
**Panek, K.**, Etude bactériologique et chimique du „barszcz“. (Bull. Acad. Sc. Cracovie janvier 1905.)  
**Rideal, Samuel**, On the sterilization of effluents. With special reference to oysters and other shell-fish, and to watercress beds. (Journ. of the R. sanitary Inst. Vol. XXVI. 1905. N. 7. p. 378—406.)  
**Wehmer, C.**, Untersuchungen über Sauerkrautgärung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 22/23. p. 682—713; N. 25. p. 781—800. 2 Taf.)

#### Milch, Molkerei.

- Bokorny, Th.**, Empfindlichkeit der Milchsäurebakterien gegen verschiedene Substanzen. Verhinderung der Milchgerinnung. (Pharmac. Centralh. Bd. XLVI. 1905. p. 223—226.)  
**Eckles, C. H. und Bahn, Otto**, Die Reifung des Harzkäses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 22/23. p. 676—680.)  
 Ein Sterilisierapparat der Firma „Nutricia“ (G. m. b. H.) Berlin. (Milch-Ztg. Jg. XXXIV. 1905. N. 26. p. 320. 2 Fig.)  
**Mazé, P.**, Les microbes dans l'industrie fromagère. Première partie. Les moisissures. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 6. p. 378—403.)  
**Ostertag**, Die Einfuhr pasteurisierter Milch aus Dänemark nach Berlin. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XV. 1905. N. 36. p. 301—303.)

#### Wein, Weinbereitung.

- Boetticher, H.**, Der Säurerückgang beim Weine und dessen Ursachen. (Weinblatt. Jg. III. 1905. N. 27. p. 222—223; N. 28. p. 229—231; N. 29. p. 238—240. Mitt. f. Weinbau u. Kellerwirtsch.)  
**Desmoulins, A. M.**, La stérilisation de la vendange et la fermentation. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 56. p. 221—222.)  
 Mottenraupen in den Korkstopfen von Weinflaschen. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXII. 1905. N. 29. p. 285—286. Wiener landw. Ztg. 1904. N. 49.)  
**Benaud, J.**, L'acide carbonique en oenologie. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 56. p. 222.)

#### Bier, Bierbereitung.

- Baker, Julian L. and Dick, W. D.**, Nachweis und Bestimmung kleiner Mengen von Maltose neben Dextrose. (The Brewers Journ. 1905. p. 334.)

- Lindner, P.**, Einwandfreie Probenentnahme für die biologische Betriebskontrolle. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 29. p. 409—410.)
- v. d. Planitz, Hans und Braaken**, Pasteurisierung von Bier unter Anwendung von Gegendruck. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 28. p. 393—395. 1 Fig.)
- Schönfeld, F.**, Die Schwendung bei der Gärung und Lagerung. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 29. p. 407—409.)
- Wichmann, Heinrich**, Japanisches Bier. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 28. p. 305.)

## Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

- Bode**, Augenblicklicher Stand der Abwässerreinigung nach dem sogenannten biologischen Verfahren. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 27. p. 382—383.)
- Ehlers, Heinrich W. E.**, Alsol, ein neueres Tonerdepräparat. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 2. p. 190—193.)
- Thumm, K.**, Augenblicklicher Stand der Abwässerreinigung nach dem sogenannten biologischen Verfahren. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XV. 1905. Heft 11. p. 337—341.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

## Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Brizi, U.**, La ruggine dei Crisantemi. (Bull. soc. Toscan.ortic. Ser. 3. IX. 1904. p. 376—378.)
- , La brusca degli olivi. (Ital. Agric. XII. 1904. p. 199. 1 Taf.)
- Burdon, E. E.**, The pine apple gall of the spruce: a note on the early stages of its development. (Proc. Cambridge Phil. soc. T. XIII. 1905. p. 12—19.)
- Cecconi, G.**, Descrizione di galle italiane nuove o poco conosciute. (Marcellia. Vol. III. 1904. p. 82—88.)
- Donini, G.**, Nuova malattia della vite in provincia di Lecce. (Boll. nat. Siena. Vol. XXIV. 1904. p. 81.)
- Ducos, J.**, Du black-rot. Découverte du moment des traitements opportuns. De la résistance des hybrides producteurs directs à cette maladie. (Vigne Améric. Macon. Vol. XXIX. 1905. p. 14—25.)
- Engival, V.**, La crise et le mildiou dans le Midi. (Rev. de viti. cult. Année XII. T. XXIV. 1905. N. 604. p. 44—45.)
- Farneti, R.**, Il marciume dei boccinoli e dei fiori delle rose causato da una forma patogena della Botrytis vulgaris Fr. (Atti Istit. Bot. Pavia. Vol. X. 1904. 2 p.)
- , Intorno al brusone del riso ed ai possibili rimedi per combatterlo; nota preliminare. (Atti Istit. Bot. Pavia. Vol. X. 1904. 11 p.)
- , Intorno ad alcune malattie della vite non ancora descritte ed avvertite in Italia. (Atti Istit. Bot. Pavia. Vol. X. 1904. 5 p.)
- G. F.**, Mildiou et rot gris. (Rev. de viticult. Année XII. 1905. T. XXIV. N. 603. p. 15—16. 1 Fig.)
- Hecke, Ludwig**, Zur Theorie der Blüteninfektion des Getreides durch Flugbrand. (Ber. d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXIII. 1905. Heft 6. p. 248—250. 1 Taf.)
- Kieffer, J. J.**, Description de deux cécidomyies nouvelles d'Italie. (Marcellia. Vol. III. 1904. p. 91—94.)
- Kieffer, J. J. et Trotter, A.**, Cecidomyies nouvelles d'Italie. (Marcellia. Vol. III. 1904. p. 64—65.)
- (Kulisch, Paul)**, Das Auftreten der Peronospora im Elsaß. (Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 30. p. 354.)
- Mangin, L. et Viala, P.**, Le Stearophora, champignon des racines de la vigne. (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIV. 1905. N. 603. p. 5—12. 1 Taf. u. 13 Fig.)
- Pavarino, G. L.**, Note di patologia vegetale. Il Rotblanc. (Alba Agric. 1904. p. 357—358.)
- Peglion, V.**, Intorno alla nebbia o mal bianco dell' Evonymus japonica. (Atti R. Accad. Lincei. Vol. XIV. 1905. p. 232—234.)
- , Il mal dello sclerozio della bietola, Sclerotium semen. (Ital. Agron. Vol. XLI. 1904. p. 516—518.)
- , L'imbrunimento delle spighe. (Ital. Agric. Vol. XLI. 1904. p. 252—253. 1 Taf.)
- , Il mal vinato dell' Erba medica, Rhizoetonia violacea. (Ital. Agric. Vol. XLI. 1904. p. 324—325. 1 Taf.)
- Pinoy**, Rôle des bactéries dans le développement du Plasmodiophora brassicae, Myxomycète parasite produisant la hernie du chou. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 22. p. 1010—1012.)
- Rolfs, P. H.**, Wither-tip and other diseases of Citrus trees and fruits caused by Colletotrichum gloeosporioides. (Bull. Depart. Agric. Jamaica. III. 1905. p. 25—34.)
- Semichon, L.**, Maladies des vins. Paris 1905. 654 p. 8°.

- de Stefani, Perez, T.**, Mimismo di una galla. (Marcellia. Vol. III. 1904. p. 66—70.)  
**Vassillière, F.**, Le black rot. (Rev. de viticult. Année XII. 1905. T. XXIV. N. 605. p. 65—70.)

#### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

- Bahr, L.**, Ueber die zur Vertilgung von Ratten und Mäusen benutzten Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 3. p. 263—274.)  
 Bekämpfung der Peronospora. (Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 29. p. 338.)  
**de**, Bekämpfung des Springwurmentwicklers. (Weinblatt. Jg. III. 1905. N. 26. p. 213—214.)

### Inhalt.

#### Originalmitteilungen.

- Didlake, Mary**, Description of a germ whose production of red pigment is limited to its cultivation upon a single medium, p. 193.  
**Fischer, Ed.**, Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Uredineen, p. 227.  
**Fischer, Hugo**, Zweiter Beitrag zur Kenntnis der Lebensbedingungen von Stickstoff sammelnden Bakterien, p. 235.  
**Rogers, L. A.**, An electrically controlled low temperature incubator, p. 236.  
**Rossi, Giacomo und Sante de Grasia**, Histologische und chemische Untersuchungen über die Zersetzung der Pflanzen, p. 212.  
**Schiff-Giorgini, Ruggero**, Untersuchungen über die Tuberkelkrankheit des Oelbaumes, p. 200.  
**Schneider, Otto**, Weitere Versuche mit schweizerischen Weidenmelampsoren, p. 232.  
**Smith, Erwin F.**, Some observations on the biology of the olive-tubercle organism, p. 198.  
**Vogel, J.**, Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes durch Mikroorganismen. (Schluß), p. 215.

#### Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

- Verhandlungen der 6. Jahresversammlung der Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen**, p. 240.  
**Bergey, D. H.**, Die bei Eiterungen vorkommenden Bakterien, p. 245.  
**Chester, F. D.**, Grundsätze für die Einteilung von Bakterien, p. 240.  
**Copeland, Wm. R. und Boynton, Perkins**, Diagnostischer Wert der roten Farbe, die sich bei Zusatz von Natronlauge zu Glukoselösungen nach Gärung entwickelt, p. 242.  
**Gage, S. de M.**, Laboratoriumeinrichtungen, p. 247.  
**Harding, H. A. und Prucha, M. J.**, *Pseudomonas campestris* (Pam.) Smith, p. 240.  
**Harding, H. A.**, Einige Versuche mit Proberöhrchen, p. 250.

- Harrison, J. C. und Barlow, B.**, Die Dampfdestillation, p. 250.  
**Hill, H. W.**, Einführende Bemerkungen über die Morphologie der Bakterien, p. 243.  
 —, Neue Apparate, p. 249.  
**Jones, Mabel**, Ein eigentümliches Spirillum, das Rosettenbildung zeigt, p. 243.  
**Marshall, C. E.**, Gemeinsame Einwirkung von Bakterien auf die Säuerung der Milch, p. 245.  
**Pammel, L. H.**, Bakteriologie der Wasserversorgung einiger Eisenbahnen, p. 246.  
**Philbrick, B. G.**, Veränderungen im Bakteriengehalt des Wassers beim Durchtritt durch ein Verteilungsreservoir, p. 246.  
**Prescott, S. C.**, Einige große, aber nicht kostspielige Brutschränke für Lehr- und Arbeitslaboratorien, p. 250.  
**Rettger, L. F.**, Ueber den Antagonismus von Bakterien und ihren Produkten gegenüber anderen Bakterien, p. 244.  
**Rickards, B. B.**, Eine einfache Methode, anaerobe Bakterien zu züchten, p. 249.  
**Robin, A.**, I. Demonstration eines wirksamen Wärmeregulators. II. Eine einfache Methode, anaerobe Platten herzustellen, p. 247.  
**Rogers, L. A.**, Eine einfache Methode, um die Fähigkeit von Bakterien, verschiedenen Zucker zu vergären, zu bestimmen, p. 248.  
**Smith, Erwin F.**, Vorführung von Kulturen auf Stärkegelée und auf Silikatgelée, p. 242.  
**Smith, E. G.**, Mitteilung über den Abwasserbakterien ähnliche Formen, die in den natürlichen Wässern von Ost-Massachusetts vorkommen, p. 250.  
**Sullivan, M. H.**, Der Stoffwechsel farbstoffbildender Bakterien, p. 243.  
**Winslow, C-E. A. und Rogers, Anne F.**, Eine Revision der Coccaceen, p. 241.

**Neue Litteratur**, p. 251.

# Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XV. No. 9.

## Original-Mitteilungen.

*Nachdruck verboten.*

### Kulturversuche mit Crepis- und Centaurea-Puccinien.

[Aus dem Botanischen Institut Bern.]

Von Alfred Hasler.

(Vorläufige Mitteilung.)

#### I. Crepis-Puccinien.

Diese Pilzgruppe ist bisher größtenteils nur morphologisch untersucht worden <sup>1)</sup>.

Auf Veranlassung des Herrn Prof. Ed. Fischer suchte ich nun durch Kulturversuche das biologische Verhalten der mir zugänglichen Crepis-Puccinien den verschiedenen bisher für sie angegebenen Nährpflanzen gegenüber kennen zu lernen. Die bisher von mir angestellten Versuche, zu denen als Nährpflanzen durchschnittlich je etwa 15 Crepis-Species, teils im Freien gesammelte, teils Sämlinge, verwendet wurden, ergaben folgende Resultate:

1) Die von Fr. Bubák<sup>2)</sup> aufgestellte *Puccinia praecox*, eine Auteupuccinie, ist streng auf *Crepis biennis* spezialisiert.

2) *Puccinia crepidicola* auf *Crepis taraxacifolia*, vorläufig nur als Hemiform bekannt, vermag außer ihrer Hauptnährpflanze auch *Crepis tectorum* zu infizieren.

3) *Puccinia major* Dietel, lebt nur auf *Crepis paludosa*.

4) Eine auf *Crepis succisaefolia* spezialisierte Auteupuccinie unterscheidet sich morphologisch und biologisch von *Puccinia alpestris* Sydow, zu der sie Ed. Fischer<sup>3)</sup> vorläufig gestellt hatte.

5) Die auf *Crepis blattarioides* lebende, bisher nur als Hemiform bekannte und zu der Sammelart *Puccinia crepidicola* gezählte Uredinee ist eine Auteupuccinie. Als Nährpflanze vermochte ich experimentell nur *Crepis blattarioides* festzustellen.

6) *Puccinia crepidis* von *Crepis virens* infizierte außer der eigentlichen Nährpflanze auch *Crepis tectorum* und *nicaeensis*.

Die Infektionen wurden teils mit Uredosporen, teils mit Uredo- und Aecidiosporen ausgeführt. Bezüglich der Infektion von *Crepis tectorum* und *nicaeensis* muß noch eine spätere Kontrolle der Nährpflanzen vorbehalten bleiben, da mir von beiden Arten nur Sämlinge zur Verfügung standen.

#### II. Centaurea-Puccinien.

Ueberwinterte Teleutosporen von *Puccinia centaureae* DC. auf *Centaurea valesiaca* brachte ich auf 18 *Centaurea*-Arten. Es

1) Siehe P. und H. Sydow, Zur Pilzflora Tirols. (Separatabdruck aus der Oesterreichischen botanischen Zeitschrift. Jahrg. 1901. No. 1 und Monographia Uredinearum etc. derselben Verfasser.)

2) Ueber die Uredineen, welche in Europa auf Crepis-Arten vorkommen. (Sonderabdruck aus dem XXXVI. Bd. der Verhandl. des naturf. Vereins in Brünn.)

3) Ed. Fischer, Uredineen der Schweiz. p. 211.

zeigte sich, daß der Pilz nur auf *Centaurea valesiaca* und *Centaurea cyanus* zu leben vermag. Auf der zweiten Nährpflanze entwickelten sich allerdings nur ganz wenige Uredolager. Eine Wiederholung des Versuchs mit Uredosporen bestätigte dieses Resultat.

Bern, Botanisches Institut, den 29. Juli 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Versuche mit Ranunculaceen bewohnenden Aecidien.

[Aus dem Botanischen Institut Bern.]

Von **Walther Krieg**, Bern.

(Vorläufige Mitteilung.)

Die Ranunculaceen bewohnenden Aecidien sind in neuerer Zeit mehrfach Gegenstand von Kulturversuchen gewesen, die aber in manchen Punkten voneinander abweichen; insbesondere scheint aus Versuchen Tranzschels hervorzugehen, daß ein *Aecidium* auf *Ficaria* zu *Uromyces Rumicis* (Schum.) Winter gehört<sup>1)</sup>, statt, wie man bisher annahm, zu *Uromyces Poae* Rabh. Ich unternahm deshalb auf Anregung des Herrn Prof. Dr. Ed. Fischer den Versuch, zur Aufhellung der strittigen Punkte in der Biologie der auf Ranunculaceen wachsenden Aecidien beizutragen, indem ich möglichst viele dieser Aecidien in meine Kulturversuche einbezog. Einige Ergebnisse derselben sollen im folgenden mitgeteilt werden.

### 1. *Aecidium Ficariae*.

Mit Aecidien-Material von *Ficaria* verschiedenster Herkunft stammend leitete ich diesen Sommer eine größere Zahl von Versuchen ein, deren Ergebnisse derart sind, daß sie zur Zeit noch kein abschließendes Urteil gestatten. Zwar trat in der Mehrzahl der Fälle nach meist verhältnismäßig langer Zeit bald schwächer, bald stärker Uredoentwicklung ein auf *Rumex Acetosa*, nicht aber auf *Rumex obtusifolius*. Daneben zeigte sich aber auch auf *Poa*-Arten, vor allem *Poa trivialis*, Uredo. Da sämtliche Versuchspflanzen nicht erst dieses Frühjahr aus Samen gezogen wurden, sondern aus dem Freien stammten, so sind Verunreinigungen durch Fremdinfection nicht ausgeschlossen. Sollten aber doch, wie ich mit einiger Wahrscheinlichkeit glaube annehmen zu dürfen, die Lager auf *Rumex Acetosa* von der Infektion mit *Ficaria*-Aecidiosporen herrühren, so hätten wir es hier mit einer besonderen biologischen Rasse des *Uromyces Rumicis* zu tun, da Tranzschel zu seinen Versuchen *Rumex obtusifolius* benutzt hatte. Ein am 7. Juli eingeleiteter Versuch, *Rumex Acetosa*, *Acetosella*, *obtusifolius*, *alpinus* und *arifolius* mit Uredo, die von *R. Acetosa* stammte, zu infizieren, ergab am 18. Juli eine starke Infektion von *R. Acetosa* und *arifolius*, während die übrigen Versuchspflanzen pilzfrei blieben.

### 2. *Aecidium* auf *Ranunculus auricomus*.

Das Material, womit ich den 10. Mai *Poa nemoralis*, *pratensis*, *annua*, *alpina*, *Dactylis glomerata*, *Rumex Acetosa*, *Acetosella*, *obtusifolius* infizierte, war von Herrn Pfarrer

1) Tranzschel, W., Beiträge zur Biologie der Uredineen. 1905.

D. Cruchet in Montagny bei Yverdon gesammelt worden. Nach 14 Tagen fanden sich auf *Poa pratensis* junge Uredolager, und nach Verlauf einiger Tage war die Pflanze mit sehr zahlreichen Lagern besetzt, während alle übrigen Versuchspflanzen keine Spur einer Infektion aufwiesen. Eine am 20. Juni vorgenommene Untersuchung wies neben Uredo- zahlreiche Teleutosporen vom Typus des *Uromyces Poae* nach. Dieses Resultat bildet eine Bestätigung der Mitteilungen Bubáks<sup>1)</sup>, Tranzschels<sup>2)</sup> und Juels<sup>3)</sup> wonach es ihnen gelungen war, mit Aecidiosporen auf *Ranunculus auricomus Poa pratensis* zu infizieren.

### 3. *Aecidium* auf *Ranunculus platanifolius*.

Ueber die Zugehörigkeit dieses *Aecidium* war bisher nichts bekannt. Da nach Analogie mit vielen anderen Ranunculaceen bewohnenden Aecidien zu vermuten war, daß das *Aecidium* auf *Ranunculus platanifolius* auf einer *Poa*-Art oder auf *Dactylis* sich weiterentwickelt, leitete ich mit dem mir aus dem Berner-Jura (Südabhang des Chasseral) von Herrn cand. phil. Hasler gebrachten Material am 26. Juni einen Versuch ein, zu dem ich *Dactylis glomerata* (ein älteres und ein diesen Frühling aus Samen gezogenes Exemplar), *Poa alpina*, *violacea*, *alpina* var. *vivipara*, *pratensis*, *nemoralis*, *fertilis*, *compressa*, *annua*, *sudetica* und *bulbosa* verwendete. Am 6. Juli erwies sich *Dactylis glomerata* sehr reichlich mit Uredo besetzt; fast sämtliche Blätter der Sämlinge waren von jungen Lagern befallen (auf dem älteren Exemplar traten ein paar Tage später auf einem jungen Blatte Spuren einer Infektion auf), während die Kontroll-exemplare und die übrigen Versuchspflanzen vollkommen gesund geblieben sind. Ich suchte am 10. Juli den Bezirk ab, aus dem das *Aecidium* stammte, und fand von den sämtlichen dort wachsenden Gräsern *Dactylis* allein infiziert. Die neben dem Uredo vorhandenen Teleutosporen der mitgenommenen Probe, sowie die am 27. Juli der Versuchspflanze entnommenen ersten Teleutosporen gehören dem Typus des *Uromyces Dactylidis* an. Also gehört das *Aecidium* auf *Ranunculus platanifolius* in den Entwicklungskreis eines *Uromyces* vom Typus des *Uromyces Dactylidis*.

### 4. *Aecidium Calthae*.

Herr W. Rytz, Assistent am botanischen Institut Bern, brachte mir am 5. Juni zwei Tage zuvor von ihm im Kiental gesammelte Pflanzenteile von *Caltha palustris*, die reichlich Aecidien trugen. Ich verwendete das Material zur Vornahme eines Infektionsversuches auf *Caltha palustris*, da, gestützt auf eine Beobachtung Winters, angenommen wurde, daß das *Aecidium Calthae* in den Entwicklungskreis einer autöcischen *Puccinia* gehört, entweder zu *Puccinia Calthae* oder zu *Puccinia Zopfii*. Meines Wissens sind Versuche darüber bisher nicht angestellt worden. — Am 19. Juni zeigten 4 von den 6 verwendeten Exemplaren (2 hatten sehr gelitten) einen prächtigen Infektionserfolg. Schon am 1. Juli wies die mikroskopische Untersuchung das Vorhandensein zahlreicher Teleutosporen vom Typus der *Puccinia Zopfii* nach, ebenso die Prüfung des Materials, das ich am 28. Juni am Fundort des *Aecidium* geholt hatte. Es ist damit experimentell bewiesen, daß *Puccinia Zopfii* autöcisch ist.

1) Bubák, Vorläufige Mitteilung über Infektionsversuche mit Uredineen im Jahre 1904. (Annales Mycologici. Vol. II. 1904. No. 4.)

2) Tranzschel, W., Beiträge zur Biologie der Uredineen. 1905.

3) Juel, Mykologische Beiträge. VII. Arkiv för Botanik. Bd. IV. No. 16.

## Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

*Nachdruck verboten.*

**Henneberg, W.**, Bakteriologische Untersuchungen an säuernden und gärenden Hefenmaischen. (Ein Beitrag zur Kenntnis des Verhaltens des *Bacillus Delbrücki* bei verschiedenen Temperaturen.) (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1905. No. 26—29.)

Die mitgeteilten Untersuchungen besitzen vor allem praktisches Interesse, da sie zum größten Teil in der Versuchsbrennerei, also in großem Maßstabe, ausgeführt wurden. Bei Gelegenheit der bakteriologischen Untersuchung einer großen Anzahl (über 100) Proben aus gesäuerten und gärenden Hefenmaischen, welche zu bestimmten Zwecken in der Versuchsbrennerei angesetzt waren, wurden einige interessante Beobachtungen gemacht. Einige dieser gelegentlichen Beobachtungen, wie das Verhalten des Kulturmilchsäurebacillus (*Bacillus Delbrücki*) bei verschiedenen Temperaturen, die Ursache der Säurezunahme in der Hefenmaische, sowie das Verhalten mit Absicht eingimpfter schädlicher Bakterien in den gesäuerten Maischen, wurden durch Laboratoriumsversuche vervollständigt. Da die Kenntnis über die Zusammensetzung der Bakterienflora in den Brennereimaischen bisher noch sehr gering ist, waren die genannten Untersuchungen sehr erwünscht.

Bei der Untersuchung der ursprünglich mit einer Reinkultur des *B. Delbrücki* geimpften, später in den ca. 70 folgenden stets aus der vorhergehenden, durch Uebertragung eines kleinen Teils der sauren Maische angesäuerten Fabrikmaischen (aus gleichen Teilen Roggenschrot und Gerstenmalz von 18—25° Bllg., 45 l) ließ sich folgendes feststellen:

Wenn genügend hohe Temperaturen (40—50° C) eingehalten wurden, kam fast ausschließlich der eingebrachte Kulturmilchsäurebacillus (*Bacillus Delbrücki*) zur Entwicklung. Die sich manchmal auf der Maischeoberfläche vorfindende Heubacilleninfektion verschwand, wenn die Infektionsquelle (das vom Holzdeckel herabtropfende Kondenswasser) beseitigt war (Abreiben des Deckels mit verdünntem Formaldehyd), schon in der folgenden sauren Maische vollständig. Mit Ausnahme einiger weniger Fälle, in denen eine geringe Streptokokken- oder Milchsäurebacillen- („wilde Arten“) Infektion vorhanden war, konnte mit der Tröpfchenkultur (hängende Würze- oder Maischetröpfchen) nie etwas anderes, als der *B. Delbrücki* nachgewiesen werden. Die natürlich stets vorhandenen, sehr geringen Infektionen (Fabrikmaische) ließen sich erst nach Anreicherung in sterilisierter Maische feststellen.

Es kam auf letztere Weise in einem Versuche z. B. neben dem Kulturmilchsäurebacillus auch eine kleine, kurzgliedrige Ketten bildende Milchsäurebakterienart („wilde Milchsäurebacillen“) zur reichlichen Entwicklung. Auch in der dann folgenden (also stets aus der vorhergehenden angesäuerten) säuernden Maische ließ sich diese Art nachweisen, dagegen war sie in der dritten folgenden Maische völlig (für diese Untersuchungsmethode) verschwunden. Solche „latenten“ Infektionen verursachen durchaus keine Störung der normalen Säuerung und verschwinden von selbst wieder.



Da für die Praxis die nur durch Anreicherung in Maische nachzuweisende Infektion ohne jedes Interesse ist, so braucht nur die Kultur in hängenden Tröpfchen, die uns jede stärkere Infektion anzeigt, zur schnellen Analyse für praktische Zwecke in der Brennerei und Hefefabrik angewandt zu werden.

In der Praxis ist im säuernden Hefengut die Temperatur nicht überall genau 50° C, die Oberfläche und die Seiten kühlen sich schneller ab. Die biologische Untersuchung ergab nun zunächst, daß auch in den Fällen, in welchen in der Tiefe der säuernden Maische 50° C und an der Oberfläche 35° (das Gefäß stand mit dem unteren Teil in einem Wasserbad von 50° C) festzustellen war, an allen Stellen stets nur der *Bacillus Delbrücki* nachgewiesen werden konnte. Es kommen durchaus nicht etwa bei jeder unvorschriftsmäßigen Abkühlung der säuernden Maische sogleich Buttersäurebakterien auf. Letztere können bei einer nur einigermaßen richtigen Arbeitsweise (reichliche Einsaat des Kulturmilchsäurebacillus in kräftigem Zustand u. s. w.) überhaupt nicht zur Entwicklung kommen.

Je nach der Höhe der Temperatur ist an den verschiedenen Stellen in der Maische die in 24 Stunden entstandene Milchsäuremenge eine verschieden große. Als Beispiele mögen folgende Zahlen genannt sein:

I. Maische. Temperatur der Tiefe			50° C: Milchsäuremenge:	0,6 Proz.
I.	"	" Oberfläche	40° C:	0,9 "
II.	"	" Tiefe	55° C:	0,3 "
II.	"	" Oberfläche	43° C:	1 "

Damit steht in Zusammenhang, daß die Maische an den Stellen mit hoher Temperatur (Optimum liegt bei 46—47°) weniger Bacillen aufweist als an den mit geringeren Wärmegraden.

Bei den verschiedenen Temperaturen in der Maische werden ferner die Bacillen in verschiedener Weise abgeschwächt. Bei 61° C (in der Tiefe einer säuernden Maische) waren sämtliche abgestorben. Eine starke Abschwächung findet aber schon bei 50° und manchmal sogar bei 44° statt.

Eine solche Abschwächung zeigt sich, wenn man von den verschieden stark erhitzten Stellen der säuernden Maische Proben in steriler Maische und in hängenden Tröpfchen untersucht. Im ersteren Falle beobachtet man, daß die bei niedrigerer Temperatur gewachsenen Bakterien (besonders bei niedriger Temperatur, z. B. 34° C) kräftiger säuern als die von höher erwärmten Stellen entnommenen. Besonders wichtig (für die biologische Analyse) ist aber das Ergebnis in den hängenden Würze-tröpfchen: Bakterien, die bei 44—50° C gewachsen waren, zeigten in den meisten Fällen keine Entwicklung, während die bei 35—40° C gewachsenen sogar noch bei 27° C sehr üppig wuchsen.

In Laboratoriumsversuchen mit absoluter Reinkultur wurden die genannten Beobachtungen nochmals genau nachgeprüft. Die Ergebnisse waren folgende:

Je höher die mit Reinkultur geimpfte Maische während des Wachstums der Bakterien erwärmt war (Kultur I bei 52° C, II bei 50,5°, III bei 40,5° und IV bei 33,5°), desto geringer war die Säurebildung, wenn aus diesen Kulturen neue Uebertragungen in sterile Maischen bei günstiger

Temperatur stattgefunden hatten. Bei 30° C säuerten z. B. die bei 33,5° C ursprünglich gewachsenen Bakterien bei weitem am kräftigsten. Die bei hoher Temperatur gewachsenen Bacillen sind also stark abgeschwächt, dagegen sind die bei niedriger Temperatur gewachsenen in sehr kräftigem Zustand. Bemerkenswert ist, daß in diesem Falle eine Säurebildung auch in Gegenwart von Hefe (Reinkultur: Rasse II) zu beobachten war. Da letzteres praktische Bedeutung hat, wurde das Verhalten dieser Bakterienart in Gegenwart gärender Kulturhefe auch bei geringen Wärmergraden festgestellt. Es ergab sich, daß bei 20° C ohne und mit Hefezusatz äußerst wenig, bei 23° etwas mehr und bei 27° (besonders ohne Hefezusatz) verhältnismäßig viel Säuerung stattgefunden hatte.

Die Wiedererkennung des *Bacillus Delbrücki* ist bei den biologischen Analysen der Brennereimaissen und der Proben aus Hefefabriken von der größten Wichtigkeit. Diese Milchsäurebacillenart dient bekanntlich zum Säuern des Hefegutes in Brennereien und zum Säuern der Maische in Hefefabriken, ist also regelmäßig in den zu untersuchenden Proben (d. h. aller derjenigen Fabriken, die nach dem Milchsäureverfahren arbeiten) in totem oder lebenden Zustand vorhanden. Es ist daher unbedingt nötig, den Kulturmilchsäurebacillus genau von den vielen anderen, teilweise sehr schädlichen „wildem Milchsäurebacillen“ unterscheiden zu können. Aus diesem Grunde wurde möglichst eingehend das Verhalten des *Bacillus Delbrücki* in hängenden Würzetröpfchen untersucht.

Es ergab sich in zahlreichen Versuchen mit absoluten Reinkulturen, daß der Befund erstens von der Temperatur, bei der die Ausgangskultur gestanden hatte, zweitens von der Temperatur, bei der die Tröpfchenkultur aufbewahrt wurde, drittens von der Art der Nährflüssigkeit und schließlich viertens von der Einsaatmenge abhängig ist. Die wichtigsten Beobachtungen sind folgende:

1) Die Bacillen aus 24-stündiger, stark erhitzter (51° C) Maischekultur wachsen weder bei hoher noch bei niedriger Temperatur. Die Säuremenge ist vor allem die Ursache der Abschwächung.

2) Bei Zusatz von Kreide nämlich tritt die Abschwächung zunächst nicht ein: Es findet noch nach 8 Tagen teilweise Wachstum (bei 41°) statt.

3) Bei weniger hoch erhitzten Ausgangskulturen (38° C) (ohne Kreidezusatz) ist noch nach 4 Tagen gutes Wachstum zu beobachten, obwohl die Maische bereits 1,2 Proz. Milchsäure enthielt. Die Maische bei 51° hatte nur 0,9 Proz. Es wirken also Säure und hohe Temperatur zusammen abschwächend.

4) Bei 27° C wachsen in Tröpfchenkulturen nur sehr kräftige Bakterien (also aus Maischen bei niedrigen Temperaturen und aus Maischen mit Kreidezusatz). Die Wachstumsmöglichkeit bei 27° erlischt viel eher als die bei 41°, da letztere Temperatur in der Nähe des Optimums liegt.

5) Bei 27° in Tröpfchenkultur mit unfiltrierter Maische findet manchmal noch Wachstum statt, während dies in filtrierter (Würze) nicht der Fall ist. Also nur unter den günstigsten

Bedingungen wächst diese Art noch bei der genannten niedrigen Temperatur.

6) Aus lebenskräftiger Kultur (Maische 27° C) angelegte Tröpfchenkulturen zeigen in Bezug auf das Wachstum folgendes Verhalten:

Bei 50° sind die Tröpfchen gänzlich mit ziemlich kurzen, meist einzelnen Bacillen angefüllt.

Bei 40° sind die Zellen viel länger und sehr dicht gelagert (nicht zusammenhängend).

Bei 30° sind aus den eingesäten Zellen äußerst lange, scheinbar ungegliederte Zellfäden geworden.

7) Je mehr Zellen eingesät sind, desto mehr aber kürzere Zellen entwickeln sich, je weniger, desto länger wachsen die Zellen aus (30—47°).

Der zweite Teil der Arbeit beschäftigt sich mit Untersuchungen an gärenden Hefenmaischen in der Fabrik. Es wurde nur das erste Mal eine Reinzucht der Brennereihefe Rasse XII angewandt, in sämtlichen folgenden (über 70) Hefenmaischen fand das Anstellen mit einem Teil der vorhergehenden Hefenmaische statt. Der Säuregrad bei der Anstellung betrug 1,6—2,3° (20 ccm = 1,6—2,3 ccm Normalnatronlauge) = 0,7—1 Proz. Milchsäure. Die Vergärung nach 48 Stunden war meist bis auf 5—6° Bllg (von 18 oder 23—25° Bllg), so daß also gewöhnlich 9—11 Proz. Alkohol vorhanden waren. Normalerweise darf die Säure während der Hefengärung nicht über 0,2° (20 ccm = 0,2 ccm Normalnatronlauge) zunehmen. In den von mir bakteriologisch untersuchten Hefenmaischen (über 100) betrug die Säurezunahme oft 0,2° bis 0,9° (also 0,09—0,4 Proz. Milchsäure).

Die Untersuchung geschah meist nur durch Kultur in hängenden Tröpfchen bei 27° und 41° C, seltener durch Petri-Schalenkultur (Würzeagar) oder durch Anreicherung in sterilisierter Maische.

In der Praxis ist es üblich, nach dem Säuern durch Erwärmung des sauren Hefengutes die Milchsäurebacillen abzutöten (1 Stunde ca. 75° C). Aus bestimmten Gründen unterblieb in den ersten und dann in den letzten Versuchen dieses Aufwärmen, so daß der Kulturmilchsäurebacillus in lebendem Zustand in die gärende Hefenmaische gelangte.

Es sollte vor allem die Ursache der öfters zu bemerkenden beträchtlichen Säurezunahme festgestellt werden. Diese wurde in allen Fällen in dem Bacillus Delbrücki gefunden, was nach den oben genannten Untersuchungen nicht weiter merkwürdig ist. Wir hatten oben gesehen, daß kräftige, d. h. bei niedrigeren Temperaturen gewachsene Kultursäuremilchbacillen auch bei der Gärtemperatur der Hefe in Gegenwart letzterer zu säuern vermögen. Schwieriger aber war die Beantwortung der Frage, wie der Bacillus trotz der zeitweise regelmäßig stattfindenden Erhitzung des sauren Hefengutes nach Beendigung der Säuerung in die gärenden Hefenmaischen in lebenskräftigem Zustand gelangen konnte. Am nächsten lag die Annahme, daß die Bacillen von den ersten Versuchen an, in denen, wie schon bemerkt, keine Aufwärmung nach der Säuerung stattgefunden hatte, beständig durch Uebertragung der Mutterhefe in den Hefenmaischen weiter verbreitet wurden. Durch Laboratoriumsversuche mußte die Möglichkeit dieser Uebertragung untersucht werden.

Zunächst sprach gegen diese Annahme die Beobachtung, daß in den Fabrikhefenmaischen eine Säurezunahme sehr unregelmäßig auftrat, mit anderen Worten, daß die Bacillen infolge der ungünstigen Bedingungen (niedrige Temperatur, Säuremenge, gärende Hefe) zeitweise ganz wieder aus der Hefenmaische verschwanden.

Es wurde nun in Laboratoriumsversuchen festgestellt, daß die Uebertragung durch die Mutterhefe nicht stattfinden kann. Die Milchsäurebacillen sind, obwohl sie große Säuremengen entstehen lassen können, sehr empfindlich gegen die Säure. Wie frühere Versuche zeigten, kommt z. B. der B. Delbrücki nicht zur Entwicklung, wenn er in Maische mit 0,47 Proz. Milchsäure (= 1 Säuregrad) eingepft wird. Möglich war nun, daß sich die Bacillen allmählich an die Säure gewöhnt hatten und in den Fällen weiter säuern konnten, in welchen die folgende Hefenmaische weniger sauer war als die vorhergehende. (Die erreichten Säuremengen schwankten allerdings öfters ziemlich beträchtlich.) Versuche zeigten, daß nach Uebertragung aus Maische mit 0,9° Säure in eine solche mit 0,8° Säure eine Weitersäuerung bei 27—28° C nicht stattfand. Bei 37—38° C säuerten die Bacillen (allerdings nur langsam und wenig) weiter, wenn aus Maische mit 1,8° Säure eine Uebertragung in solche mit 1,3° Säure vorgenommen war. Unter den in den Fabrikhefenmaischen herrschenden Bedingungen (25—29° C) kann also eine beständige Uebertragung der die Säurezunahme verursachenden Bacillen durch die Mutterhefe nicht vorliegen, trotz der Erwärmung nach der Säuerung mußten irgendwie lebenskräftige Bacillen aus der sauren Maische jedesmal, wenn eine Säurezunahme in der Hefenmaische zu bemerken war, in letztere gelangt sein.

Abtötungsversuche im Laboratorium bei Anwendung von Fabrikmaische (26° Bllg, 0,75 Proz. Milchsäure, 24 Stunden alt) zeigten bei Erhitzung (in 10—12 Minuten) auf 70° C noch viele Bacillen in lebendem, bei weiterer Erhitzung (in 3 Minuten) auf 72,5° C dagegen sämtliche in abgestorbenem Zustand. Danach mußte die in der Fabrik auf 75—77° C 1 Stunde lang erhitzte Maische natürlich frei von lebenden Milchsäurebacillen sein. Die oberhalb der Maischeoberfläche an den Gefäßwandungen haftenden, von der Erhitzung nicht getroffenen Maischeteilchen enthielten jedoch, wie nachzuweisen war, lebenskräftige Bacillen, die beim Bewegen der Maische oder beim Eingießen der Mutterhefe nach der Abkühlung wieder in die Maische gelangten und wie Versuche zeigten, darin auch in Gegenwart der Hefe weiter säuerten.

Es mag auch erwähnt sein, daß die Säurezunahme um so größer war, je höher die Temperatur der Hefenmaische war. Ferner sprach die Tatsache, daß bei Säurezunahme niemals flüchtige Säure gefunden wurde, ebenfalls für die Gegenwart des B. Delbrücki, der in allen Fällen auch durch die Tröpfchenkultur nachgewiesen werden konnte.

Das Weitersäuern der Kulturmilchsäurebacillen in der Hefenmaische in Gegenwart der gärenden Hefe ist in der Praxis durchaus zu verhüten. Die Hefe ist nämlich gegen größere Säuremengen empfindlich, wie außer durch die Fabrikversuche auch durch Laboratoriumsversuche bei Anwendung technischer Milchsäure bewiesen wurde. Es waren z. B. nach 2 Tagen in der Fabrik-

maische mit 0,4° Säurezunahme bei 2,1° Gesamtsäure (= 0,9 Proz. Milchsäure) 94 Proz. der Hefezellen und nach 3 Tagen im Laboratoriumsversuche bei 1,8° Säure (= 0,81 Proz. Milchsäure) 90 Proz. abgestorben (in der Kontrollprobe ohne Säure nur 10 Proz.). In der Praxis kommt es aber vor allem darauf an, eine möglichst kräftige Hefe zu erhalten.

Je größer die Säurezunahme, desto schlechter ist auch die Vergärung und desto geringer die entstandene Alkoholmenge.

Schließlich wurde versucht, durch künstlichen Zusatz von schädlichen Bakterien die Hefenmaischen zu infizieren. Das Ergebnis war in allen Versuchen, daß es ganz unmöglich ist, eine sich durch Säurezunahme bemerkbar machende, d. h. für die Praxis in Betracht kommende Infektion zu erhalten. Durch die vorhandene Säure wird die Entwicklung sämtlicher später eingebrachten Bakterien völlig verhindert. Aus diesem Grunde wird in der Praxis auf eine ausreichende, normale Säuerung des Hefengutes besonders Gewicht gelegt. Wenn 1° (= 0,45 Proz. Milchsäure) und darüber hierbei erreicht wurde, so können die etwa in der Mutterhefe vorhandenen Bakterien unter keinen Umständen aufkommen. Diese Hemmung der Entwicklung trat in einem Laboratoriumsversuch schon bei 0,6° (= 0,27 Proz. Milchsäure) für eine schädliche Milchsäurebacillenart ein.

Durch eine große Anzahl biologischer Analysen wurde dann noch die Frage, ob und wie lange sich die eingebrachten Bacillen in den Hefenmaischen nachweisen lassen, zu beantworten versucht. Nach 2-tägiger Gärung wurden in einem Versuche sämtliche eingebrachte 6 Milchsäurebacillenarten durch die Kultur in hängenden Tröpfchen noch nachgewiesen. Der nächste folgende Hefensatz (der also mit einem Teil, etwa 6—8 l zu 40 l frisch gesäuerter Maische angestellt war), enthielt nur noch eine Art, die ebenfalls in dem dann folgenden zweiten Hefensatz, soweit die Tröpfchenkultur angab, verschwunden war. Sobald aber eine Anreicherung durch Einimpfen aus diesem Satz in sterilisierte Maische bei 34° (während eines Tages) stattgefunden hatte und daraus Tröpfchenkulturen angelegt waren, traten 5 Bacillenarten wieder zum Vorschein. Dies beweist also, daß die eingebrachten Bacillen nicht abgetötet, sondern nur in der Weiterentwicklung gehemmt, daher nur noch in Spuren vorhanden waren. Ähnlich war das Ergebnis vieler anderer Versuche, von denen nur einer hier noch erwähnt sein mag: Eine Kartoffelmaische, die soeben fertig verzuckert war, wies spontan eine Infektion durch Pediokokken und 2 schädliche Milchsäurebacillenarten auf. Nach dem Säuern und der Hefegärung war nur noch der *Pediococcus* nachzuweisen, der auch in den folgenden sauren Maischen noch zu finden war. Bei vorschriftsmäßiger Säuerung werden demnach die etwa von vornherein vorhandenen schädlichen Bacillenarten ebenfalls schnell unterdrückt.

Autoreferat.

## Referate.

**Saito, K.**, Untersuchungen über die atmosphärischen Pilzkeime. (Journal of the College of Science, Tokyo. Vol. XIII. 1904. p. 1—53.)

Durch zwei Jahre stellte Verf. an den verschiedensten Lokalitäten seines Vaterlandes mit Nährgelatine versehene Petrischalen in die Luft und beobachtete:

1) Von dem Regen, der Temperatur und dem Winde hängt die Zahl der in der Luft schwebenden Pilzkeime recht bedeutend ab. 2) Die Luft der Krankenhäuser, der Gärten und der Laboratorien zeigt bezüglich der Keime sonderbarerweise geringere Unterschiede, als man sonst anzunehmen willens ist. 3) In der heißen Jahreszeit wiegt in der Gartenluft *Botrytis cinerea* und *Verticillium glaucum* vor, in der kälteren Jahreszeit dagegen *Heterobotrys*-Arten und *Fusarium roseum*. 4) Sonst wurden am häufigsten gefunden: *Penicillium glaucum*, *Cladosporium herbarum*, *Epicoccum purpurascens*, *Aspergillus glaucus*, *Catenularia fuliginea*, *Mucor racemosus*, *Rhizopus nigricans*, *Macrosporium cladosporioides*, *Monilia*-Arten.

Eine ähnliche Untersuchung der Luft an den verschiedensten Orten anderer Länderstriche würde nur Lehrreiches bringen.

Matouschek (Reichenberg).

**Heim**, Der Reinlichkeitszustand künstlicher und natürlicher Mineralwässer. (Hyg. Rdsch. Bd. XV. p. 169.)

H. gibt die Ergebnisse einer in seinem Institute in Erlangen von Gustav Schütz ausgeführten Arbeit (Inaug.-Dissert.) wieder und ergänzt die Angaben durch die Mitteilung, daß zur Keimaussaat ein modifizierter Prallscher Nährboden benützt worden ist: 5 Proz. Gelatine, 0,75 Proz. Agar, 1 Proz. Pepton; neutrale Reaktion.

Bei dem hohen Keimgehalt, der sehr oft gefunden wurde, verlangt H. größere Reinlichkeit bei der Bereitung resp. Abfüllung der Wässer, und im Interesse der Verringerung des Alkoholmißbrauchs eine Verbilligung besonders der natürlichen Wässer.

Hirschbruch (Posen).

**Saito, K.**, Ueber das Vorkommen von *Saccharomyces anomalous* beim Sakebrennen. (Journal of the Science Imper. univers. of Tokyo. Vol. XIX. 1904. Article 18. 14 p.)

Verf. beschreibt einen Hefepilz, der in den Formenkreis von *Saccharomyces anomalous* gehört, der aber vorläufig noch nicht mit einem neuen Namen versehen wurde, da eine genaue Klassifikation des Formenkreises unbedingt vorher vorgenommen werden muß. Verf. isolierte diese Art Kahlhefe aus frischer Sake, beschreibt sie und die Kulturen genau.

Matouschek (Reichenberg).

**Schenk, M.**, Ueber Selbstverdauung einiger Hefearten (obergärige Hefe, Brennereihefe, Kahlhefe). (Wochenschrift f. Brauerei. Bd. XXII. No. 16. p. 221—227.)

Zur Vervollständigung der Kenntnisse der Selbstverdauung der Hefe, die bislang nur an untergäriger Bierhefe studiert war, hat Verf. obergärige Bierhefe, Brennereihefe und Kahlhefe, letztere nicht ganz

frei von Kulturhefe und Bakterien, der Selbstverdauung bis zum Verschwinden der Biurettreaktion in der Verdauungsflüssigkeit überlassen und dann die Digestionsflüssigkeit untersucht.

Bezüglich der Isolierungsmethoden der Verdauungsprodukte muß auf das Original verwiesen werden, das Ergebnis dieser Trennung war kurz folgendes: Im allgemeinen stehen sich ober- und untergärrige Bierhefe einerseits, Brennereihefe und Kahlhefe andererseits der Natur ihrer Verdauungsprodukte nach nahe. So fehlt bei Brennerei- und Kahlhefe das Arginin und Guanidin, während in den Verdauungsprodukten der Bierhefen Uracil fehlt. Obergärrige Hefe liefert Glutaminsäure, die bei den anderen Hefen nur in unsicheren Spuren gefunden wurde. Die Verdauungsflüssigkeit von Kahlhefe ergab keine Spur von Tryptophan, während diejenigen von obergärriger und Brennereihefe starke Tryptophanreaktion gaben. Auffallend war die Beobachtung, daß die beim Abfiltrieren der Verdauungsflüssigkeiten zurückbleibenden ausgelaugten Hefezellen sich bei Berührung mit Luft braun bis schwarz färbten. Nur die Brennereihefe hinterließ rein weiße Zellen. Diese Beobachtung kann vielleicht zur Prüfung von Brennereihefe auf Reinheit benutzt werden.

Mohr (Berlin).

**Kusserow, R.**, Die neuere Vervollkommnung des Milchsäureverfahrens. (Oesterreichische Brennereizeitung. Jahrg. III. 1905. No. 8.)

Verf. weist zunächst kurz auf die sich bei den verschiedenen Temperaturen (20—47° R) entwickelnden Milchsäurebakterien hin und gibt dann weiter an, daß, falls man Maische sich selbst überläßt, sich darin Bakterien aller Art entwickeln. Unter diesen ist in erster Linie der Buttersäure- und der Heubacillus zu nennen, die beide für die Hefentätigkeit schädlich sind. Ferner sind auf dem eingemaischten Getreide und Malz auch die Hefe beeinträchtigende, bei niedriger Temperatur sich entwickelnde Milchsäurebakterien vorhanden. Es ist daher in der Brennerei und Hefefabrik dafür Sorge zu tragen, daß die gezüchteten Milchsäurebakterien vor dem Buttersäure- und Heubacillus geschützt sind und die richtige Rasse von Milchsäurebakterien, d. h. die sich bei 45—47° R entwickeln, erhalten wird.

Kausch (Charlottenburg).

**Reiss, E.**, Die Katalase der Milch. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LVI. Heft 1—2.)

Die Ergebnisse der Untersuchungen werden folgendermaßen zusammengefaßt:

1) Die Katalase ist in der Milch mit den Fettkügelchen vergesellschaftet. 2) Sie läßt sich aus dem Rahm mit Wasser und physiologischer Kochsalzlösung ausziehen. 3) Sie haftet Substanzen mit großer Oberfläche wie Kieselgur an. 4) Die Bindung der Katalase an die Milchkügelchen ist also eine rein physikalische, hervorgerufen durch Oberflächenwirkungen. 5) Die Katalase ist im kolloidalen Milchplasma unlöslich, während sie sich in kolloidfreien Flüssigkeiten löst. 6) Die Zerstörung der Katalase durch Wasserstoffsuperoxyd ist nicht als fundamentaler Unterschied zwischen Fermentwirkung und gewöhnlicher Katalyse zu betrachten. Einen solchen gibt es nach dem gegenwärtigen Stand der Untersuchungen überhaupt nicht.

Hetsch (Berlin).

**Vuillemin, P.**, Hyphoïdes et bactéroides. (C. R. Acad. Sc. Paris. T. CXL. 1905. p. 52—53.)

Den Pilz, den man auf den zum Teil zerstörten Tuberkeln der Leguminosen trifft, hatte Verf. im Jahre 1888 *Cladochytrium tuberculorum* genannt. Er stellt ihn heute zum Genus *Pythium*.

In den neugebildeten oder neoplastischen Geweben dieser Tuberkeln hat der Verf. immer *Rhizobium* angetroffen, das mit dem Cytoplasma eng vermischt war und deutlich ein bakteroides Aussehen hatte. In den jungen Tuberkeln und in der Borke der Wurzel, welche sie trägt, bemerkt man dagegen Filamente mit Cellulosewandung, die oft zu Ampullen aufgeblasen sind. Verf. bezeichnet sie als hyphoid und stellt ihre Natur fest. Das Gebilde besteht aus zwei Elementen: 1) Aus einer Scheide, welche das Produkt der Reaktion der Gewebe der Leguminose auf den Reiz des Fremdkörpers ist. Diese Scheide setzt sich in die Membranen der Zellen fort, die sie durchzieht, und scheidet den Parasiten beständig vom Zellprotoplasma. Verf. bezeichnet sie als eine transcelluläre Membran. 2) Aus einer Schleimmasse, die Körperchen einschließt, welche den Bakterien ähnlich sind, die aus den Tuberkeln isoliert werden und welche neue Nodositäten auf den Wurzeln der Leguminosen entstehen lassen können.

Die Hyphoiden stellen ebenso wie die Bakteroiden keine rein parasitischen, sondern symbiotische Formen dar. Houard (Paris).

**Macchiati, L.**, Note di biologia sul *Bacterium chlorometamorphicum*. (Bullet. Soc. botan. italiana. Firenze 1904. p. 238—241.)

Zu Neapel beobachtete Verf. in einer verschlossenen Flasche destillierten Wassers einen grünen Bodensatz, den er ursprünglich als von *Protococcus* gebildet hielt. Die nähere Beobachtung ergab dagegen, daß es sich um ein Bakterium handle. Doch entsprach dieses dem von Van Tieghem (1880) beschriebenen *B. viride*, aus dem inneren Hohlraume des Hutes eines auf Epheustamm gewachsenen *Polyporus*, nicht. Die Kulturen des Pilzes im hängenden Tropfen verrieten eine neue Art, welche Verf. *B. chlorometamorphicum* benannte. Die Zellen sind stets bewegungslos, kommen isoliert vor, haben Stäbchenform und bei 7—10  $\mu$  in der Länge 4—5  $\mu$  in der Breite. Sie vermehren sich ausschließlich durch Teilung; Sporenbildung wurde nicht beobachtet. Sind aber die Durchlüftungsverhältnisse des Wassers ungünstig, dann gehen, ebenfalls durch Teilung, *Micrococcus*-Formen hervor. Die Zellen färben sich mit wässerigen Lösungen der basischen Anilinfarben leicht.

Die aërobe Form dieses Bakteriums dürfte, nach Verf., in der Luft vorkommen, die anaërobe wahrscheinlich im Boden leben. — Vergeblich sucht man jedoch in der vorliegenden Mitteilung eine Erklärung für die grüne Farbe des Bodensatzes. Solla (Pola).

**Dop, P.**, Sur la biologie des *Saprolegniées*. (C. R. Acad. Sc. Paris. T. CXL. 1905. p. 454—455.)

Verf. hat von *Saprolegnia Thureti*, die er auf einer Barbe gesammelt hat, Reinkulturen erhalten, indem er das Mycelium auf einem sehr günstigen Medium, bestehend aus einer Lösung von Pepton zu 4 Proz., dem Citronensäure von 4 pro Mille zugefügt war, aussäte. Die Entwicklung vollzieht sich äußerst schnell im Zustand der Aërobiose und ist fast unmöglich im Zustande der Anaërobiose. — Wenn der Pilz in einer Lösung von reiner Glykose von 4 Proz. gezüchtet wird, der Citronensäure von 3 pro Mille zugefügt ist, so entwickelt er sich durchaus



gut im Zustand der Aërobiose oder der Anaërobiose. In letzterem Falle vollzieht sich eine komplizierte Gärung. Der Pilz kann auch in Medien leben, welche nur Spuren von Mineralsubstanzen enthalten.

Houard (Paris).

**Vuillemin, P.**, L'Aspergillus fumigatus est il connu à l'état ascospore? (Arch. de parasitologie. T. VIII. 1904. p. 540—542.)

Ein Artikel von Grijns, welcher im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. p. 330—332 erschien und die Entdeckung von Perithezien in einer auf Koningschem Nährboden gezüchteten, 3 Monate alten Kultur von Aspergillus fumigatus ankündigte, begründete diese Notiz. Diese Perithezien ähneln erstaunlich den unter dem Namen Sterigmatocystis nidulans beschriebenen und besonders denen eines Sterigmatocysten, welchen Vuillemin St. pseudo-nidulans nennt. Sie besitzen, wie die von Grijns beschriebenen Perithezien, linsenförmige, mit einem gestreiften äquatorartigen Hofe versehene Askosporen. Die Perithezien müssen also noch gefunden werden.

Langeron (Paris).

**Lubimoff, L. v.**, Die Verbreitung des Hausschwammes in Rußland. (Zeitschr. des österreichischen Ingenieur- und Architektenvereins. 1905. p. 363.)

In diesem Lande hat der Hausschwamm eine ungeheure Verbreitung erlangt und liegt eine der hauptsächlichsten Ursachen dieser Erscheinung in dem intensiven Bau von Eisenbahnen, da seine plötzliche Invasion im Jahre 1880 ganz genau mit der Entwicklung des Eisenbahnbaues in Rußland übereinstimmt. Gegenwärtig besitzt Rußland ein Eisenbahnnetz von mehr als 65 000 km, und an diesem Netze entlang verbreitet sich auch der Hausschwamm, da die meisten russischen Wohnhäuser und sogar Eisenbahnstationsgebäude aus Holz gebaut werden. Die verursachten Zerstörungen werden auf mehrere Millionen Mark geschätzt, da der Hausschwamm nicht nur Bauholz, sondern auch andere mit dem Bauholz mehr oder weniger eng verbundene Materialien vernichtet, wie Tapeten, Papier, Leder, Teppiche, Holzrahmen von Oelgemälden und Photographien; er verbreitet sich durch seine sehr langen Stränge sogar durch Risse im Mauerwerk, gelangt dann zuweilen wieder auf Holzwerk, das weitab vom eigentlichen Schwammherd liegt, und ergreift auch dieses. Verfasser führt nun einige hervorragende Fälle von Hausschwamm-Invasionen an Gebäuden an, die die eminente Zerstörungskraft dieses Schädigers erkennen lassen und die interessante Tatsache ergeben, daß sogar ein Frost von 65° C die Entwicklung der Sporen des Hausschwammes nicht verhütet hat.

In Rußland haben gegen den Hausschwamm bis jetzt folgende Antiseptika Anwendung gefunden: Karbolineum von Avenarius (Teeröle, die weder Phenol noch Pyridin enthalten), zuweilen günstig gewirkt; Mixion von Bechmann, ohne gute Folgen; Gudronit von Zischewsky (dichte Teeröllösung), sehr gutes Mittel gegen Feuchtigkeit, nicht immer aber so gut gegen den Hausschwamm; Exsiccator von Ritter, eine grüne fette Lösung, in der Wirkung ähnlich dem Gudronit; 1-proz. Sublimatlösung mit Aetzkalk hat sich sehr gut bewährt; Kreosotöl, sehr gutes Mittel, wenn das Holz damit getränkt ist; Mycothanaton von Müller. Diese Lösung hat in Rußland die besten Leistungen gegen den Hausschwamm erwiesen, ist aber sehr giftig, so daß man beim Arbeiten mit ihr höchst vorsichtig umgehen muß. Nicht

zu verwechseln ist sie ferner mit dem unwirksamen Mycothanaton von Herman oder Wilen. (Ueber die chemische Zusammensetzung gibt Verfasser derart eigentümliche Formeln, daß man daraus nicht klug wird.)  
Stift (Wien).

**Fankhauser, F.**, Der Kiefernschütteepilz an der Arve. (Schweizerische Zeitschr. f. Forstwesen. Jahrg. LIV. 1903. p. 321—323) und **Schellenberg, H. C.**, Zur Schüttekrankheit der Arve. (Dieselbe Zeitschrift. 1904. p. 44—48, mit einer Entgegnung von F. Fankhauser.)

Schellenberg behauptet, daß der junge Nachwuchs in den Arvenwäldern regelmäßig durch *Lophodermium Pini* zerstört werde. Der Pilz kann, wie Infektionen beweisen, auf die grünen Nadeln der Arve übertreten; eine Infektion in der Natur tritt sicher auf. Die so befallenen Arven verlieren die im Frühjahr infizierten Nadeln bereits im Herbst, die Fruchtkörper des Pilzes erscheinen aber erst auf den abgestorbenen Nadeln. Fankhauser bezweifelt zwar das Auftreten des Pilzes auf der Arve nicht, konstatiert aber, daß er in dem Nachwuchs der Arve nicht verheerend auftritt. Der spärliche Nachwuchs ist namentlich auf tierische Schädlinge, z. B. Tannenhäher, Vieh zurückzuführen. — Es scheint also der völlige Beweis für die Ursache des Absterbens der jungen Arven durch den Pilz noch nicht vorzuliegen. Ein gemeinsames Vorgehen bei dieser wichtigen Untersuchung wäre sehr wünschenswert, um Klarheit in die Frage zu bringen.

Matouschek (Reichenberg).

**Tubeuf, C. von**, Die Hexenbesenkrankheit der Syringen in Bayern. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jahrg. III. 1905. Heft 4. p. 37—39.)

Die Hexenbesen der Syringen sind bisher nur auf *Syringa vulgaris* beobachtet worden, und war die Krankheit bis zu letzter Zeit in Bayern wenig verbreitet. Laut eingelaufenen Berichten kamen derartige Schädigungen, die durch die Milbe *Phytoptus Leowi* veranlaßt werden und Verunstaltungen der Büsche, Absterben größerer Teile der Pflanzen, Verkümmern der Blätter und Unterdrückung der Blütenbildung verursachen, neuerdings häufiger vor, weshalb die Notwendigkeit intensiverer, gemeinsamer Vertilgungsverfahren erwächst, die derzeit nur in der gründlichen Revidierung, Reinigung, guten Pflege und Düngung der Büsche bestehen. Für Mitteilungen über das Vorkommen der Krankheit in Bayern wäre Autor sehr dankbar.  
Pósch (Grinád).

**Jacobi**, Eine Spinnmilbe (*Tetranychus ununguis* n. sp.) als Coniferenschädling. (Naturw. Zeitschr. für Land- und Forstwirtschaft. 1905. Heft 6.)

An der Sitkafichte (*Picea sitchensis*) konnte Verf. eine Milbenspinne feststellen, die ziemlich schwer zu identifizieren war und endlich als neue Species bezeichnet werden mußte. Es folgen dann nähere Angaben über sie. Als Gegenmittel hat sich das Bestreichen mit einer Lösung von 250 g Schmierseife in 10 l Wasser bewährt.

Paul Ehrenberg (Breslau).

**Smith, R. E.**, The water-relation of *Puccinia Asparagi*. A contribution to the biology of a parasitic fungus. (Botanical Gazette. Vol. XXXVIII. 1904. p. 19—43. Mit 21 fig.)

Atmosphärische Feuchtigkeit ist für die Entwicklung des Pilzes von Vorteil, Bodenfeuchtigkeit jedoch von Nachteil. Im letzteren Falle nämlich wächst der Wirt stark und besitzt dem Pilze gegenüber eine größere Widerstandsfähigkeit. Daher ist der Tau für eine Infektion des Wirtes förderlicher als der Regen. Die Teleutosporen sind es natürlich, die alle ungünstigen Verhältnisse überdauern und die Vertreibung des Pilzes hintanhaltend. Matouschek (Reichenberg).

**Hiltner, L.,** Mahnung zur Vorsicht beim Einkauf von La-Plata-Mais und von Reismehl. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jahrg. III. 1905. Heft 5. p. 55—57.)

Der infolge der Futterausfuhrverbote verschiedener Staaten neuerdings in großen Mengen eingeführte La-Plata-Mais wird laut eingelangten Proben von den Insekten *Calandra Oryzae*, *Tribolium ferrugineum*, *Anobium paniceum* und *Sitotroga cerealella* derartig geschädigt, daß auf dieselben als gefährliche Speicherschädlinge und Zerstörer der Lagervorräte besonders hingewiesen werden muß. Jedenfalls sollten die Eisenbahnwagen, in denen derartige Produkte verfrachtet werden, nach der Entladung einer gründlichen Reinigung und Desinfektion unterzogen werden. Pósch (Grinád).

**Brick, C.,** Ueber das Kirschbaumsterben am Rhein. (Vortrag, gehalten am 18. Mai 1904 im naturwissenschaftlichen Vereine in Hamburg.) (Verhandlungen des naturwiss. Vereines in Hamburg. 3. Folge. XII. Jahrg. 1904; Hamburg 1905. p. LXVI—LXVII.)

Frank und später besonders Aderhold bezeichneten als Urheber der in der Rheinprovinz seit den 90er Jahren auftretenden Kirschkrankheit den Pilz *Cytospora rubescens* Fr. Durch künstliche Infektion mit den Sporen kann an Aesten leicht der Gummifluß und an Seitenzweigen leicht das Hervorbrechen der Pilzpolster erzeugt werden. Die Krankheit scheint eine Modekrankheit dieses Obstbaumes werden zu wollen, wie vor mehreren Jahren die *Monilia*-Erkrankung; denn es werden Erkrankungen bereits aus dem Altenlande, Westfalen, Pr.-Schlesien gemeldet. — Bordeauxbrühe erwies sich bis jetzt allgemein als nutzlos, wohl aber sind folgende Bekämpfungsmittel anzuraten: Auflassen der frühen Kirschensorten, Verbrennen der stark befallenen Bäume oder Aeste, Ausschneiden der getöteten Rindenpartien an wenig befallenen Stämmen, Teeren der Schnittwunden und Wasserzufuhr in trockenen Zeiten. Matouschek (Reichenberg).

**Köck, G.,** *Septoria Lycopersici* auf Paradiespflanzen und *Phyllosticta Cyclaminis* auf *Cyclamen persicum*. (Zeitschrift für das Landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1905. p. 572.)

Als für Oesterreich neu ist in 2 Fällen auf Tomatenblättern das Auftreten des Pilzes *Septoria Lycopersici* beobachtet worden. Der Pilz gehört keineswegs zu den mehr oder weniger harmlosen Blattpilzen, da bei einem der beobachteten Fälle die Pflanzen zu Grunde gegangen sind. Durchgreifende Bekämpfungs- bzw. Vorbeugungsmittel sind noch nicht bekannt, so daß weitere Versuche als notwendig erscheinen. Weiter wurde das Auftreten des parasitischen Pilzes *Phyllosticta Cyclaminis* Brun. auf *Cyclamen persicum* beobachtet. Der Pilz dürfte allerdings nicht empfindlich schädigen, da er eigentlich nur einen Schön-

heitsfehler bedingt. Derselbe fällt aber vom gärtnerischen Standpunkt ebenso schwer ins Gewicht, weil dadurch der Wert der Zierpflanze erheblich sinkt. Auf den *Phyllosticta*-Flecken finden sich in ziemlich großer Menge schwarze Punkte, die schon mit der Lupe deutlich zu sehen sind, die Perithezien des Pilzes, in denen sich die kleinen ovalen Sporen in großer Menge finden. Die Perithezien haben einen Durchmesser von 100—110  $\mu$ , die Sporen sind 6—8  $\mu$  lang, 2  $\mu$  dick, hyalin. Als Gegenmittel sind alle diejenigen Blätter, welche *Phyllosticta*-Flecken zeigen, wenn diese auch noch so klein sind, sofort zu entfernen und zu verbrennen, damit eine Neuinfektion gesunder Blätter womöglich verhindert wird. Eventuell kann auch eine Beseitigung mit Kupferkalkbrühe versucht werden, obwohl über den Wert eines derartigen Bekämpfungsmittels bis jetzt noch nichts bekannt ist.      Stift (Wien).

**Delacroix, G.**, La rouille blanche du tabac et la nielle ou maladie de la mosaïque. (C. R. Acad. Sc. Paris. T. CXL. p. 678—680.)

Die vom Verf. studierte Tabakskrankheit, über die schon von ihm und Prillieux im Jahre 1894 Mitteilungen gemacht worden waren, ist vom wahren Rost verschieden und bildet den weißen Rost. Dieser wird von Bakterien erzeugt und der Verf. schlägt für die Bakterienart, welche die Urheberin der Krankheit ist, den Namen *Bacillus maculicola* vor. Diese Bakterie ruft auf den Blättern kleine blasse Flecken hervor, welche sich bald abheben, indem sie sich mit einem bräunlichen Rande umgeben, dessen Breite ein wenig wechselt und der etwas vorspringt. Dieser Rand bewirkt, daß die Ausdehnung des Parasiten aufgehalten wird. Gleichzeitig bleicht der zentrale Fleck mehr und mehr aus und vertrocknet. Das Chlorophyll verschwindet nach und nach aus den Chloroleuciten ohne Zweifel infolge der Sekretion einer oxydierenden Diastase, welche der Verf. durch Alkoholbehandlung oder durch Gaiac-Tinktur nachweist.

Die Bakterie des weißen Rostes läßt sich leicht in verschiedenen Medien kultivieren und färbt sich mit den gewöhnlichen Verfahren; sie färbt sich aber nicht mit der Gramschen Methode. Die Elemente sind cylindrisch und kurz und haben eine Ausdehnung von ungefähr 1,5  $\mu$  bzw. 0,75  $\mu$ . Sie sind oft isoliert, bisweilen sind auch je zwei vereinigt. Cilien und Sporen sind nicht vorhanden. Die alten Kulturen besitzen einen ausgesprochenen Geruch von Nitrobenzin. Schließlich kann man die Infektion leicht ausüben, ohne vorher eine Verwundung zu bewirken.

Um den weißen Rost fernzuhalten, sollten die Tabaksbauer genügend lange Zeit mit den zu kultivierenden Gewächsen abwechseln und vermeiden, daß kranke Tabakspflanzen auf den Dung geworfen werden.

Houard (Paris).

**Uzel, H.**, Mitteilung über Krankheiten und Feinde der Zuckerrübe in Böhmen im Jahre 1904. (Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. Jahrg. XXIX. 1905. p. 399.)

Beobachtet wurden: Runkelfliege (allgemein verbreitet), Milbenspinne (bedeutender Schaden an vielen Orten), Erdflöhe, schwarze Blattlaus, Erdraupen, Engerlinge, Drahtwürmer, Tausendfüßer, Aaskäfer, Mooskopfkäfer, Nematoden und Feldmäuse. Von schädlichen Pilzen ist besonders die Rotfäule (*Rhizoctonia violacea*) aufgetreten, ferner auch die Herz- und Trockenfäule. In Prag und Umgebung wurde die sogenannte Mosaikkrankheit und die Weißblättrigkeit (*albicatio*) beobachtet. Die

Mosaikkrankheit hat sowohl Zucker- wie Samenrüben und Futterrüben befallen. Diese Krankheit tritt ganz ähnlich wie auf den Blättern des Tabaks in der Art auf, daß einzelne lichtgrüne Parteen mit dunkelgrünen Parteen in buntem Gemenge wechseln.      Stift (Wien).

**Gonnermann**, Wurzelbrand. (Blätter für Zuckerrübenbau. Bd. XII. 1905. No. 9.)

Verf. erwähnt eine Arbeit von Erwin Smith, Washington, in der durch *Pseudomonas campestris* hervorgerufener Wurzelbrand an Futterrüben durch Mikrophotogramme verfolgt wurde und hebt ihre Bedeutung hervor. Es folgt noch eine kurze Besprechung der weiteren diesbezüglichen Ansichten und Untersuchungen anderer Forscher, die vorwiegend in einer Infektion oder in den physikalischen Bodenverhältnissen die Krankheitsursache erkennen.

Verf. (der übrigens über abgeschlossene eigene Versuche in vorliegender Richtung scheinbar noch nicht verfügt) hält zweifellos Organismen für die Haupt- und Grundursache der Krankheit, die, vielleicht im eigentlichen Rübensamen sich findend, durch Beizen nicht zu entfernen sind. Erst in zweiter Linie komme die Bodenbeschaffenheit in Betracht.      Paul Ehrenberg (Breslau).

**Sigmund, Wilhelm**, Beiträge zur Kenntnis des Wurzelbrandes der Rübe. (Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jahrg. III. 1905. p. 212—221.)

Zur weiteren Klärung der von L. Hiltner in den „Untersuchungen über die Keimlingskrankheiten der Zucker- und Runkelrüben“ (Arb. a. d. Biol. Abt. IV. p. 207) ausgesprochenen Ansicht, daß die durch *Phoma Betae* bzw. *Bacillus Mycoides* an den Keimpflänzchen der Rüben hervorgerufenen charakteristischen Krankheitserscheinungen durch die Gegenwart gewisser Stoffe eine wesentliche Steigerung erfahren, untersuchte Verf. den Einfluß verschiedener Substanzen, insbesondere einiger Zersetzungs- und Abbauprodukte der Eiweißkörper auf den Verlauf der Keimlingskrankheit der Zuckerrübe. Die Rübenknäule wurden 24 Stunden lang a) mit reinem Wasser, b) mit *Phoma*- oder *Mycoides*-haltigem Wasser, c) mit der Lösung der zu prüfenden Substanz (Buttersäure, Glykokoll, Harnsäure, Tyrosin, Amidobenzoësäure, Benzoësäure, Alanin, Leucin, Bernsteinsäure, Asparaginsäure, Hippursäure), d) mit Wasser, welches die einwirkende Substanz gelöst und *Phoma*-Konidien bzw. frische *Mycoides*-Kolonien verteilt enthielt, vorgequellt und in reinem, durch destilliertes Wasser feucht gehaltenem Sand zur Keimung aufgestellt, nachdem zuvor die Quellungsflüssigkeit dekantiert worden war. Einzelne Versuche wurden mit ausgewaschenen und wieder getrockneten Rübenknäulen, noch andere mit vorgekeimten Knäulen unter Verwendung von nur gesunden Keimpflänzchen mit rein weißen Wurzeln ausgeführt.

Aus den mitgeteilten Versuchsergebnissen geht hervor, daß fast sämtliche untersuchten Substanzen in der angewandten Verdünnung den Krankheitsprozeß nicht oder noch im günstigen Sinne beeinflussen, sobald in ihnen Pilzkonidien bzw. Bakterien nicht vorhanden sind. Ebenso vermögen die untersuchten Organismen (*Mycoides* und *Phoma*) allein den Verlauf der Krankheit nicht oder doch nur in geringem Maße (höchstens um 5 Proz.) zu steigern. Hingegen erhöht sich die Zahl der kranken Rübenkeime mehr oder minder, sobald die Rüben-

knäule mit den die genannten Organismen enthaltenden Lösungen der einwirkenden Substanzen gequellt werden. Besonders auffallend ist die krankheitsförende Wirkung bei Glykokoll, Harnsäure, Asparaginsäure, Hippursäure und Leucin. Phoma steigert den Krankheitsverlauf in weit höherem Grade als Mycoides.

Festzustellen bleibt noch, ob die krankmachende Wirkung der untersuchten Substanzen bei gleichzeitiger Gegenwart der genannten Organismen auf Steigerung der Erkrankungsdisposition der Rübenkeime oder auf Steigerung der Virulenz der pathogenen Organismen zurückzuführen ist.

Beck (Tharandt).

**Noack, F.**, Ein neuer Rübenschädling. (Hess. Landw. Zeitschr. 1904. No. 50.)

Auf den Rübenfeldern in der Umgebung von Gernsheim wurden Schädigungen von Raupen einer in die Gattung *Lita* gehörenden Motte (wahrscheinlich *Lita atriplicella*) beobachtet, die sich in einer Verkümmernng, Kräuselung und Durchlöcherung der Herzblätter äußerten. Ähnliche Schädigungen wurden bisher von keinem der bekannten Rübenschädlinge verursacht. Da *L. atriplicella* gewöhnlich die Melden und Gänsefußarten befällt, scheint hier ein der abnormen Trockenheit des Sommers zuzuschreibender Wirtswechsel um so mehr vorzuliegen, da der Schädling auch auf Mangold schon beobachtet wurde. Es wäre interessant, zu erfahren, ob die *Lita*-Larve auch anderwärts auf Rüben beobachtet wurde. Bis zur Abschließung der Beobachtungen über den Entwicklungsgang des als „Rübenminiermotte“ bezeichneten Schädlings wird zur Bekämpfung die Vertilgung der auf Feldern häufig auftretenden Melden und Gänsefußarten die Entfernung der befallenen Rübenblätter und die Vernichtung der bei der Ernte entstehenden Abfälle empfohlen.

Pósch (Grinád).

**Wilmon Newell**, The cotton caterpillar. (Georgia State Board of Entomology Atlanta. Bull. No. 9. 1904.)

Anwendung von Arsenverbindungen in flüssiger und trockener Form gegen die auf der Baumwollpflanze lebenden Raupen von *Aletia argillacea* Hübn. 1) In flüssiger Form mit der Spritze gespritzt. Pariser Grün ist etwas wirksamer als Bleiarsenat. Dieses letztere wegen seines besseren Haftens bei Regenwetter vorzuziehen. Es verbrennt weniger die Blätter als Pariser Grün. Man verwendet es in der Stärke von 1—3 lbs (Pounds) auf 50 Gallons Wasser. Dem Pariser Grün wird Kalk zugefügt: 1 lb Pariser Grün, 1½ lbs Kalk, 100 Gallons Wasser oder 2 lbs Pariser Grün und 3 lbs Kalk oder 3 lbs Pariser Grün und 4 lbs Kalk. Die beiden letzten Zusammensetzungen verbrennen die Blätter; die erstere wenig, die zweite stark. 2) In trockener Form wird Pariser Grün, gemischt mit trocken gelöschtem Kalk, ausgesiebt. (Der Kalk wird in der Weise gelöscht, daß er mit nur soviel heißem Wasser begossen wird, als er braucht, um in ein trockenes Pulver zu zerfallen.) Es wird 1 Teil Pariser Grün mit 4 Teilen trocken gelöschtem Kalk vermisch. Man verwendet 1—1½ lbs Pariser Grün per Acre. Um die trockene Mischung auszustreuen, stellt man folgenden Apparat her. Man bohrt an den beiden Enden eines 4½ Fuß langen und 3 Inches breiten Brettes ein Loch, unter dem man am Brett einen Sack aus ungestärkter Leinwand befestigt. Man füllt die beiden Säcke mit der trockenen Mischung, faßt das Brett in der Mitte und geht schnell die Reihen der Pflanzen entlang. Es sollen etwa 4 Pounds auf 1 Yard durchgesiebt

werden. Ist die Leinwand zu weit und geht zu viel von der Mischung hindurch, so muß man engere Leinwand nehmen oder zur Mischung mehr Kalk hinzufügen.  
J. Dewitz (Geisenheim).

**Aderhold, Rud., und Ruhland, W.,** Zur Kenntnis der Obstbaum-sklerotinien. (Arbeiten a. d. Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. IV. 1905. p. 427—442. Taf. VII.)

Auf dem Wege der Reinkultur und durch Uebertragungsversuche gelang es, den Zusammenhang der auf Apfelmumien gefundenen *Sclerotinia fructigena* (Pers.) Schroet. mit *Monilia fructigena* Pers. und fernerhin die Zugehörigkeit der auf Aprikosenmumien angefallenen *Sclerotinia laxa* (Ehrenb.) Aderh. et Ruhl. zu *Monilia laxa* Ehrenb. nachzuweisen. Die letztgenannte, bisher vernachlässigte *Sclerotinia*-Art ist neben den mit Recht unterschiedenen Arten *S. cinerea* und *fructigena* wiederherzustellen. Hingegen gehört die von Norton auf Pfirsichmumien zuerst aufgefundene *Sclerotinia*-Art nicht zu der durch gelbe Konidienpolster ausgezeichneten *Monilia fructigena*, wohin sie von Norton fälschlich gestellt wurde, sondern zu einer Art mit grauen Konidien, höchstwahrscheinlich zu *Monilia cinerea*. In der Frage nach den Wirten der einzelnen *Sclerotinia*-Arten ergab sich bei *S. fructigena* und *cinerea* eine wenn auch keineswegs sehr feste Spezialisierung in der Richtung, daß der erstgenannte Pilz die Apfelblüten und das Kernobst überhaupt, der letztgenannte die Steinobstblüten bevorzugt. Auch bei *S. laxa* ergab sich eine schwache Spezialisierung auf Steinobst. Ob sie im Freien außer den Aprikosenblüten die Blüten anderer Obstarten zu befallen pflegt, ist durch weitere Beobachtung noch festzustellen. Wichtig für die Unterscheidung der 3 *Sclerotinia*-Arten sind neben Farbe der Konidien und Vorkommen im Freien Form und Größe der Askosporen und der Asci. Die unterscheidenden Merkmale sind am Schluß der Zusammenstellung übersichtlich geordnet. Beck (Tharandt).

**Laubert, R.,** Eine neue Rosenkrankheit, verursacht durch den Pilz *Coniothyrium Wernsdorffiae*. (Arbeiten a. d. Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. IV. 1905. p. 458—460.)

Verf. beschreibt unter vorstehendem Namen einen neuen, zu den Fungi imperfecti zu stellenden Pilz, der an der Rose eine sehr charakteristische Rindenerkrankung hervorruft. Aus anfänglich mehr oder weniger ovalen oder kreisförmigen, auf der grünen Rinde der Zweige, zumeist an den Blattachseln auftretenden braunen Flecken verschiedener Größe entwickeln sich mit der Zeit ziemlich tiefgehende, rindenbrandartige, kranke Stellen, die im 2. Jahre zu offenen, an Krebs erinnernden Wunden werden. Durch diese nicht selten gürtelförmig um den Zweig herumgreifenden Flecken werden in schweren Erkrankungsfällen ganze Zweige zum Absterben gebracht. In den äußeren Teilen der abgestorbenen braunen Rindenflecke entstehen als einzige Fruchtkörper kugelförmige oder sphäroidale Pykniden, deren dunkelfarbige Wandung einzellige, eiförmige oder breiteiförmige, teils gefärbte, teils farblose Sporen abschnürt. Besonders ausgebildete Sporenträger fehlen. Die aus dem nach auswärts gerichteten Mündungskanal heraustretenden Sporenmassen breiten sich, ähnlich wie bei manchen *Melanconium*-Arten, in Form kleiner, schwarzer Flecke auf der Rinde aus. In systematischer Hinsicht steht der Pilz der *Sphaeropsis fusca* (Preuss)

Sacc. ziemlich nahe und ähnelt bezüglich seiner pathogenen Wirkung auf die Wirtspflanze in hohem Maße der in Nordamerika an Apfelbaumzweigen krebbsartige Wunden hervorrufenden *Sphaeropsis Malorum* Beck (Tharandt).

**Hermann**, Zur Kropfbildung bei der Eiche. (Schriften der Naturforschenden Gesellschaft in Danzig. Neue Folge. Bd. XI. Danzig 1904. Heft  $1\frac{1}{2}$ . p. 113—119.)

In der Einleitung bespricht Verf. die Entstehung der „Maserköpfe“ an Ahornen, Linden, Erlen u. s. w., die zurückzuführen sind auf ein gedrängtes Auftreten von Adventivknospen oder auf nicht zur Entwicklung gekommene oder bald wieder abgestorbene Proventivknospen oder gar auf stark anschwellende Markstrahlen. In diesen Fällen werden die Elemente des Holzkörpers von dem geradlinigen Verlaufe abgehalten. Anders entstehen die „Knollenmasern oder Kugeltriebe“ von Hühnereigröße bei der Rotbuche, nämlich aus schlafenden Knospen, deren Verbindung mit dem Holzkörper des Mutterstammes unterbrochen ist und die nun selbständig fortfahren, sich mit neuen Holzschichten zu umgeben. Diese Gebilde hängen oft gar nicht mehr mit dem Holzkörper zusammen. Auch Pilze können die Entstehungsursache sein, z. B. bei Lärchen die *Peziza Willkommii*, bei Tannen das *Aecidium elatinum*, bei Buchen, Eschen u. s. w. *Nectria ditissima*. G. Henschel hat 1882 als Erzeugerin der Kropfbildung bei der Eiche die Finne *Gongrophytes quercina* n. sp. angenommen, aber mit Unrecht; denn diese vermeintlichen Finnen sind nach Verf. die in der Eichenrinde stets vorhandenen, in den Kropfrinden nur besonders zahlreich und üppig entwickelten Steinzellennester. Verf. fand nun in den Eichenkröpfen nie ein Pilzmycel, so daß als sicher angenommen werden kann, daß sie durch Pilze nie entstanden sind. Der Kropf entsteht vielmehr durch einen Insektenstich (vielleicht einer *Lachnus*-Art) aus der Verletzung des einjährigen bzw. sich eben aus der Knospe streckenden jungen Triebes. Die Kröpfe wachsen heran und zersprengen die Rinde, so daß Holz zerstörenden Pilzen der Eintritt gewährt wird. Die Anatomie der Eichenkröpfe wird genau erläutert.

Matouschek (Reichenberg).

**Tubeuf, C. v.**, Die Milbenspinne an den Fichten. (Naturwissensch. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtsch. 1905. Heft 6.)

Im Zusammenhang mit dem Artikel von Jacobi in dem gleichen Heft hebt Verf. hervor, daß ihm schon früher das Vorkommen von Milbenspinnen an Sitkafichten bekannt war, auch, daß er die Ueberwinterung der Milbenspinnen in Eiform zuerst hervorgehoben haben dürfte.

Paul Ehrenberg (Breslau).

**Aderhold, Rud.**, Impfversuche mit *Thielavia basicola* Zopf. (Arbeiten a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft am Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. IV. 1905. p. 463—465.)

Infektionsversuche mit dem auf Knollen kranker Begonien gefundenen, auf künstlichen Nährböden (sterilisierten Birnen- oder Möhrenstückchen, Traubenzucker-Bouillon-Gelatine u. s. w.) leicht kultivierbaren Pilze, an Wurzeln von *Lupinus luteus*, *Scorzonera hispanica*, *Daucus Carota* u. a. vorgenommen, bestätigten einerseits die parasitäre Natur des Pilzes, andererseits aber auch die Richtigkeit der Auffassung Sorauers, nach der besondere Verhältnisse vorhanden sein



müssen, wenn eine wirkliche Schädigung eintreten soll. Entgegen den Beobachtungen Zopfs erkrankte bei den Versuchen des Verf. immer nur der sogenannte Wurzelhals, nie die Wurzel, letztere auch dann nicht, wenn die Impfung unter der Erde stattgefunden hatte. Die von Zopf beschriebenen, auf künstlichen Substraten vor den braun gefärbten Konidien sich reichlich bildenden farblosen Konidien sind Oidienglieder, die von einer an der Basis fortwachsenden und dort bisweilen von einer äußeren Wand scheidenartig umgebenden Hyphe gebildet werden. Die diese Hyphe umgebende Scheide, deren Bildungsweise geschildert wird, ist nicht als Sporangium zu betrachten. Beck (Tharandt).

**Muth, Franz,** Ueber den Birnenhexenbesen. (Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jahrg. III. 1905. p. 64—76.)

Verf. beschreibt in Wort und Bild einige von ihm auf dem wilden Birnbaum beobachtete Hexenbesen, deren dichte Verzweigung dadurch zustande kommt, daß die Triebspitzen in der Hauptsache bald mehr oder weniger absterben, während sich an den noch lebenskräftigen Teilen der Zweige neue Seitensprosse entwickeln. Die Blätter der Hexenbesen sind am Ende der Zweige am größten und werden um so kleiner und kümmerlicher, je näher sie der Abstammungsachse der einzelnen Triebe stehen. Sie sind im Gegensatz zu den dunkelgrünen Blättern gesunder Zweige blaß hellgrün gefärbt und weisen häufig eingesenkte, oft durchscheinende, hellgelbe, später braun werdende, in erster Linie wohl auf Wassermangel der betreffenden Gewebe zurückzuführenden Stellen auf. Die Dornbildung tritt an den Hexenbesen sehr zurück. Da sich im Holz aller untersuchten Zweige der Hexenbesen, und zwar vorzugsweise in den weitleumigen Gefäßen septierte, farblose oder schwach grünlich aussehende Hyphen vorfanden, wird ein infolge Fehlens von Fruktifikationsorganen nicht bestimmbarer Pilz als Ursache der Hexenbesenbildung angesehen. *Exoascus* wurde an den fraglichen Bäumen nicht gefunden. Eine im äußeren Aussehen verschiedene Krankheit wurde an einem veredelten Birnbaume beobachtet. Die erkrankten, dicht verzweigten, durch sehr kurze Internodien auffallenden Aeste trugen kleine rundliche, dicht wollig behaarte Blätter und hatten eine auffallend dicke, schwarze, nicht selten große Risse und krebsähnliche Wunden aufweisende Rinde. Der Holzkörper der jungen Zweige zeigte jedoch ähnliche Erscheinungen wie die oben beschriebenen. Dieser Umstand macht es wahrscheinlich, daß auch im letzteren Falle derselbe Erreger in Frage kommt wie oben, obgleich die erkrankten Aeste hier scheinbar wenigstens viel gesündere Blätter und kein so häufiges Absterben der Triebspitzen zeigten, wie die Hexenbesen des wilden Birnbaumes.

Beck (Tharandt).

**Nadson, G. und Raitschenko, A.,** Zur Morphologie von *Enteromyxa paludosa* Cienk. (Scripta Botanica Horti Universitatis Petropolitanae. 1905. Fasc. XXIII. St. Petersburg. 18 pp. 4 Taf. [Russisch mit Deutsch. Résumé.])

Die Verf. fanden diesen merkwürdigen und sehr seltenen myxomycetenähnlichen Organismus im Jahre 1903 in einem Glasgefäß, welches Wasser und Algen aus einem Teich des Forstparkes in der Umgebung St. Petersburgs enthielt. Der Plasmakörper von *Enteromyxa paludosa* erreicht bis zu einem Millimeter Länge, ist gewöhnlich wurmförmig und gewunden, häufig verzweigt und sogar infolge von Anastomosieren der Zweige von netzförmiger Gestalt. Er besteht aus einem

äußeren hyalinen Ektoplasma und einem inneren körnigen, an Vakuolen reichen Endoplasma; dieses besitzt eine lebhaft blaugrüne Färbung, die von zur Nahrung aufgenommenen Cyanophyceen herrührt. Im Plasma befinden sich viele kleine Zellkerne, die in den Präparaten nach Färbung mit Delafield'schem Hämatoxylin gut zu sehen sind. Außerdem wird der Plasmakörper von einer ziemlich dicken, farblosen, glasartig durchscheinenden Schleim- oder Gallertscheide (Schleimhülle) umgeben; diese bemerkt man indessen nur infolge von kleinen Algen (Oscillarien, Diatomeen) oder von verschiedenen Schmutzpartikeln, die der äußeren Oberfläche anhaften; doch ist dieselbe prachtvoll sichtbar, wenn man den Organismus in flüssige chinesische Tusche bringt. Eine schwache Lösung von Methylenblau färbt die Schleimhülle sehr schön; gleichzeitig wird ihre geschichtete Struktur offenbar. Diese Hülle wird vom Plasma hervorgebracht und pflegt von verschiedener Dicke zu sein; in einigen Fällen fehlt sie sogar. Sie dient dem zarten Plasmakörper zum Schutz (unter anderem gegen Angriffe von Mikroorganismen) und kollabiert und verschwindet völlig bei Bildung von Sporocysten, die infolge ihrer festen Wandung genügenden Schutz genießen. Vom Hyaloplasma nehmen Pseudopodien verschiedener Form und Größe ihren Ausgang.

Die von Verf. studierte *Enteromyxa paludosa* nährt sich ausschließlich von der einzelligen Cyanophycee *Synechococcus aeruginosus* und verschmäht durchaus die in ihrer Nähe vorhandenen Oscillarien und Diatomeen. Die Verdauung der verspeisten *Synechococcus*-Zellen geht entweder in den Nahrungsvakuolen oder im Endoplasma unmittelbar vor sich; hierbei verändern die Zellen bedeutend ihre Dimensionen, sie quellen, ihre Umrisse werden oft unregelmäßig; darauf findet Verdauung und Auflösung statt (ausführlicheres darüber siehe das russische Original); am Ende verbleiben kleine kompakte, dunkelbraune Klümpchen — das sind Exkremente („ingesta“), die, zur Ausscheidung bestimmt, bei der Sporenbildung in den Raum der Sporocysten übergeführt werden und dort neben den Sporen liegen.

Die Vermehrung von *Enteromyxa* kann durch Teilung des Körpers (Fragmentation) geschehen, aber besonders charakteristisch und wichtig ist die Vermehrung durch Sporen. In diesem Falle zerfällt der Körper der Länge nach in eine Reihe von Klümpchen; darauf folgt eine Kontraktion dieser Klümpchen, und sie scheiden eine derbe Membran aus, sie werden Sporocysten. Im Innern der Sporocysten zerfällt das körnige Plasma in Sporen, deren Zahl (wahrscheinlich nach der Zahl der Zellkerne im Plasma), zwischen 1 und 20 schwankend, gewöhnlich 3–6 beträgt. Die Sporen besitzen je einen Zellkern; ihre Größe beträgt im Mittel:  $9-10 \times 12-13 \mu$ . Gestalt und Größe der Sporocysten sind sehr variabel, die ungefähr isodiametrischen haben  $28-33 \mu$ . Wie mikrochemische Reaktionen zeigen, enthält die Cystenmembran anscheinend Chitin oder einen diesem nahestehenden Stoff; sie gibt keine Cellulosereaktion.

Es gelang den Verf. leider nicht, die Keimung der Sporen und die Bildung größerer Plasmakörper zu beobachten.

Nach Form und Dimensionen ihrer Körper, die den Plasmodien sehr ähnlich sehen und gemäß ihren vielsporigen Cysten, ähnelt *Enteromyxa* so sehr den Myxomyceten, daß man sie als eine primitive, niedrig organisierte Form in der Reihe der Myxomyceten-Endosporeen auffassen kann. Andererseits erinnert sie mit ihren stark entwickelten Schleimhüllen an einige der einfachsten Foraminiferen und zwar an die Gruppe der Myxothecinae von Rhumbler.

Nadson (St. Petersburg).

**Lemée, E.**, Notes sur quelques zoocécidies et maladies cryptogamiques récoltées lors de l'excursion de la Soc. Linnéenne de Normandie à Saint-Léonard-des-Bois. (Bull. Soc. Linn. Normandie, Caen. Série V. T. VI. 1903. p. 67—73.)

Diese kurze Notiz enthält die Beschreibung von 29 der am meisten verbreiteten Cecidienarten und von 7 kryptogamischen Krankheiten, die sich auf *Caspella bursa-pastoris*, *Prunus spinosa* etc. finden. Houard (Paris).

**Lemée, E.**, Sur des formes nouvelles de zoocécidies. (Bull. Soc. Ent. France. 1903. p. 32—33.)

Auf den Zweigen vieler Bäume und Sträucher, die an den Ufern eines Baches bei Alençon (Orne) wachsen, hat Verf. sehr zahlreiche Beulchen beobachtet, die kaum die Größe eines Hirsekorns erreichen und meist in der Richtung der Achse des Zweiges aneinandergereiht sind. Lemée schreibt unter Vorbehalt diese Beulchen der Wirksamkeit eines Tenthrediniden zu, dessen Larve sich im Wasser entwickeln würde. Die Cecidien sind auf folgenden Pflanzen gefunden worden. *Alnus glutinosa*, *Crataegus monogyna*, *Evonymus europaeus*, *Fraxinus excelsior*, *Ligustrum vulgare*, *Prunus spinosa*, *Salix alba*, *S. caprea*, *S. viminalis*, *Sambucus nigra*, *Solanum dulcamara*, *Viburnum lantana*, *Viburnum opulus*.

Houard (Paris).

**de Rocquigny-Adanson, G.**, Note cécidologique. (Bull. Soc. Ent. France. 1903. p. 56.)

Die Cecidien von *Lestes viridis* sind auch im Park de Baleine (Allier) auf folgenden Pflanzen gefunden worden: *Acer pseudoplatanus*; *Aesculus rubicunda*; *Amelanchier* sp., *canadensis*?; *Azalea* sp., *viscosa*?; *Cornus florida*; *Cotoneaster* sp., *buxifolia*?; *Cytisus laburnum*; *Deutzia crenata*; *Evonymus latifolius*; *Ilex aquifolium*; *Juglans regia*; *Liquidambar orientalis*; *Pinus strobus*; *Pterocarya caucasica*; *Sambucus nigra*; *Syringa* sp.

Houard (Paris).

**Pierre**, Note cécidologique. (Bull. Soc. Ent. France. 1903. p. 57.)

Verf. weist auf einen Artikel aus seiner Feder vom Jahre 1902 hin und zeigt, daß die zahlreichen Erhöhungen oder, besser gesagt, Wülste, welche von Lemée beobachtet worden sind, wirklich von *Lestes viridis* und nicht von einer Tenthredinide herrühren.

Houard (Paris).

**Pierre**, Observations cécidologiques. (Revue Sc. Bourbonnais et Centre France, Moulins. Année XVI. 1903. p. 44—45.)

Kurze Beschreibungen einiger neuer Cecidien werden in dieser Notiz gegeben: Die Schote von *Sarothamnus scoparius* schwillt an unter dem Einfluß von *Tychius venustus*; Blüte und Trieb von *Genista tinctoria* ebenfalls durch eine Varietät desselben Insekts; die Knoten von *Centaurea nemoralis* und *Epilobium cannabinum* schwellen durch die Wirkung der Raupen von *Epiblema lactuosana* und *Pterophorus microdactylus* (?) an, etc.

Houard (Paris).

**Pierre**, Sur l'éclosion des œufs de *Lestes viridis* van der L. (Bull. Soc. Ent. France. 1904. p. 30—31.)

Verf. vervollständigt seine früheren Beobachtungen, indem er die besondere Art des Auskriechens der Larven und den Uebergang der jungen *Lestes* von den Eiern ins Wasser beschreibt. Aus dem Ei kriecht eine eingewickelte, etwa 2,5 mm lange Larve (Prolarve) hervor, die verschiedene Sprünge ausführt, ins Wasser geht und ihre Hülle abstreift. Die ausführlichere Arbeit wird in den *Annales der Société Entom. de France* erscheinen.

Houard (Paris).

**Glard, A.,** La ponte des Libellules du genre *Lestes*. (Feuille jeunes Naturalistes. Paris. Année XXXIII. 1903. p. 189—192.)

Verf. zeigt, wie interessant die von Abbé Pierre angegebenen Einzelheiten über das Eierlegen von *Lestes viridis* sind, einer Orthoptere, die zu der Gruppe der Odonaten gehört. Er vergleicht ferner diese hübsche Entdeckung mit kürzlich von T. G. Needham über die amerikanischen *Lestes* gemachten merkwürdigen Beobachtungen.

Houard (Paris).

**Schouteden, H.,** Les aphidocécidies paléarctiques. (Ann. Soc. Ent. Belgique. T. XLVII. 1903. p. 167—193.)

Da die Notizen über die Aphidien sich in den Arbeiten von Bayer, Kaltenbach, Passerini zerstreut finden, so hat Verf. ein für die Cecidologen äußerst nützliches Werk vollbracht, indem er die durch Aphiden hervorgebrachten Cecidien zu einem Ganzen zusammenfaßt. Er vervollständigt auch Gesamtüberblicke und Kataloge, welche in den letzten Jahren über die Zoocecidien Europas erschienen sind.

Die Pflanzen sind in alphabetischer Reihenfolge aufgezählt.

Eine gewisse Anzahl von neuen oder wenig bekannten Cecidien sind von dem Verf. in Belgien beobachtet worden: *Anagallis arvensis* (Aphis sp.), die jungen Blätter schrumpfen zusammen und legen sich gegen den Stengel um; *Angelica sylvestris* (Aphide), die jungen Blätter schrumpfen leicht zusammen; *Chaerophyllum hirsutum* (*Rhopalosiphum dianthi*), die Blätter schrumpfen zusammen, der Rand ist oft rotgefärbt; *Cotoneaster vulgaris* (Aphis pomi), die Blätter sind aufgerollt; *Ilex aquifolium* (Aphis ilicis), Blätter der äußersten Zweigspitzen zurückgebogen, die jüngsten bisweilen völlig aufgerollt; *Leontopodium alpinum* (Aphis leontopodii), mißbildeter Blütenstand; *Origanum vulgare* (Aphis origani), die zusammengeschrumpften Endblätter sind mehr oder weniger gegen den Stengel hin zusammengerollt; *Philadelphus coronarius* (? Aphis viburni), die Endblätter stark zusammengeschrumpft und mehr oder weniger aufgerollt; *Sagittaria sagittifolia* (*Rhopalosiphum nymphae*), Aufrollen der jungen Blätter; *Salix capreae* (*Siphocoryne pastinacae*), Mißbildung der jungen Sprossen nebst Aufrollen der Blätter; *Solanum nigrum* (*Rhopalosiphum dianthi* und Aphis rumicis), aufgerollte, zusammengeschrumpfte, blasige Blätter; *Sonchus oleraceus* (*Macrosiphum sonchi*) leicht gebogene Blätter; *Tragopogon porifolius* (Aphis tragopogonis), Blätter leicht zusammengeschrumpft und verbogen; *Triticum* (*Brachycolus stellariae*), Internodien verkürzt, Blätter zurückgebogen; *Valeriana officinalis* (? Aphis viburni), Fiedern zusammengeschrumpft, zurückgebogen, nach unten gebogen; *Vicia cracca* (Aphis cracciae), die jungen Blätter sind zurückgebogen.

Bestimmungstabellen sind für die Cecidien auf den Genera *Pistacia*, *Populus*, *Prunus*, *Pirus*, *Ulmus* beigegeben.

Houard (Paris).

**Molliard, M.**, Structure de quelques Tylenchocécidies foliaires. (Bull. Soc. botan. France. Paris. T. LI. 1904. Sess. extr. p. CI—CXII. 5 fig.)

Der Verf. gibt den anatomischen Charakter von einigen durch Tylenchus hervorgerufenen Gallen an, dessen starke Gallen erzeugende Wirkung eine bedeutende Hypertrophie der Gewebe hervorruft. Er studiert die Gallen, welche von diesem Parasiten an den Blättern von *Artemisia vulgaris* (von Yunnansen stammend), *Achillea millefolium* und *Agropyrum repens* erzeugt werden. Alle diese Blattgallen sind durch sehr konstant erscheinende Dinge charakterisiert; nämlich durch Teilung und Hypertrophie der Parenchymzellen, häufiges Auftreten von mehreren Kernen in derselben Zelle, Hypertrophie des Kernes und des Kernkörperchens, Erscheinen desselben in der Einzahl oder Mehrzahl, wenn es in dem normal erscheinenden Kern nicht existiert.

In den Gallen von *Achillea millefolium* und *Agropyrum repens* hat der Verf. außerdem tiefe Veränderungen in der Struktur der Gefäßbündel beobachtet, welche an die neuen Verhältnisse gebunden sind, in denen sie sich entwickelt haben.

Schließlich lassen sich die physiologischen Veränderungen, welche die durch Tylenchus umgestalteten Zellen erfahren, nicht nur an dem mikroskopischen Charakter der Zellen erkennen; sie bekunden sich auch darin, daß die Pilzparasiten nicht mehr denselben Widerstand leisten. In der Galle von *Agropyrum repens* ist es dem Mycel einer Sphäropsideen-Art, welche die normalen Organe nicht angreift, möglich, die durch den ersten Parasiten schon veränderten Gewebe zu befallen.

Houard (Paris).

**Molliard, M.**, A propos de la galle de l'Eriophyes Echii. (Bull. Soc. bot. France. T. L. 1903. p. 475—477.)

Verf. zeigt in dieser kurzen Mitteilung, daß der von M. d'Arbaumont (Bull. Soc. bot. France. 1903. p. 263—267) angegebene und abgebildete teratologische Fall für die Wissenschaft nicht neu ist. Er ist schon von Schimper, Pluskal, Kirschleger, Giraud-Josserand etc. beschrieben worden. Den Cecidologen ist diese Mißbildung seit langem bekannt; sie schreiben dieselbe der Wirkung einer Acaride, *Eriophyes Echii* Can., zu. Verf. hat die Cecidie in St. Cast (Côtes-du-Nord) angetroffen.

Houard (Paris).

**Marchal, P.**, Diagnose d'une Cécidomyie nouvelle vivant sur le Caroubier. (Bull. Soc. entom. France. Paris. 1904. p. 272.)  
— La Cécidomyie des Caroubes, *Schizomyia Gennadii* Marchal. (Annal. Soc. entom. France. Paris. T. LXXIII. 1904. p. 561—564. 2 fig.)

Die Früchte des Johannisbrotbaumes (*Ceratonia siliqua*) sind in ihrer Entwicklung oft aufgehalten durch die Larve einer Cecidomyien-Art, welche von dem Ackerbaudirektor Gennadius auf der Insel Cypern entdeckt wurde. Die Larven sind orangefarben, und wann sie aus den auf der Frucht abgelegten Eiern auskommen, so dringen sie in diese und ernähren sich von ihr. Die angegriffene Frucht bleibt kurz und verdickt. Der Rand, der der Insertionsstelle der Kerne entspricht, ist sehr konvex und das Ganze sieht wie ein Kranz aus. Die Gewebe der Wandung sind hypertrophiert und unregelmäßig gebuckelt. An derselben Traube kann die Mehrzahl der Schoten angegriffen sein.

P. Marchal hat den Parasiten aufgezogen und das vollkommene

Insekt erhalten, das er zum Genus *Schizomyia* unter dem Speciesnamen *S. Gennadii* stellt. Es existieren, wie Gennadius meint, wahrscheinlich zwei Generationen im Jahre, von denen die eine im Herbst die noch ganz jungen Schoten und die andere im Frühjahr die schon mehr entwickelten Früchte angreift. Houard (Paris).

**Fletcher, James**, Canada depart. agr. Central exper. farm. (Report of the entomologist and botanist. Ottawa. 1903.)

Bekämpfungsmittel gegen Heuschrecken. 1 Pound Pariser Grün gemischt mit 5 Eimer Pferdekot. Oder: 1 Teil Pariser Grün gemischt mit 100 Teilen frischem Pferdekot. Auf  $\frac{1}{2}$  Barrel der Mischung werden 2 Pounds in Wasser gelöstes Salz hinzugefügt. Die Mischung wird mit einer hölzernen Schaufel den Rändern der Felder entlang verteilt. Sie zieht die Heuschrecken an. J. Dewitz (Rehfelde).

**Lounsbury, C. P.**, Locust Poisons. (Agr. Journ. Cape of Good Hope. 1903. No. 2.)

Der Autor faßt verschiedene gegen Heuschrecken angewendete Arsenikmittel zusammen. Arsenik gehört zur Zeit zu den wichtigsten Mitteln gegen Heuschrecken. In Natal besteht die vornehmlichste Bekämpfungsmethode in dem Bespritzen der Stellen, an denen sich die Heuschrecken aufhalten, mit Arsenik-Melasse-Brühe. Zu dieser verwendet man: Arsenik 1 Pound, Waschsoda  $\frac{1}{2}$  Pound, Melasse oder Zucker 5 Pounds, Wasser 10 Gallons. Arsenik und Soda werden bis zur Lösung der ersteren Substanz gekocht. Man kann die Lösung mit 20 Gallons Wasser verdünnen. Die Heuschrecken fressen jedoch auch die stärkere Lösung und sterben schneller. Die Pflanzen werden stark verbrannt von der Lösung, was jedoch in dem Veld wenig in Betracht kommt. Es wird nur der Teil bespritzt, in dem sich die Heuschrecken befinden. — Die Amerikaner und Kanadier benutzen in ausgiebiger Weise Kleie-Arsenik-Mischung, welche auch gegen die Eulenraupen mit Erfolg angewandt wird. Es gibt für die Mischung verschiedene Formeln. Eine viel gebrauchte Formel ist in folgender Weise zusammengesetzt: 1 Pound Arsenik oder Pariser Grün, 6—10 Pounds Kleie und so viel Wasser, als man braucht, um die Masse durch und durch zu nassen. Gewöhnlich wird Zucker hinzugefügt, 1 Pound auf je 1 Pound Arsenik. Dieser Zusatz hält die Masse besser zusammen und trägt zur Anziehung der Heuschrecken bei. Die Masse wird zu Kugeln von der Größe eines Eies geformt, und die Kugeln werden ausgestreut. — Eine kanadische, vom Staatsentomologen empfohlene Formel ist: 1 Pound Gift und 50 Pound Kleie und etwas gezuckertes Wasser. Das Gift wird mit etwas Wasser vermischt und die Kleie nach und nach zugefügt. Einige brauchen die Mischung fast trocken, andere mehr flüssig. Es ist wichtig, daß zuerst das Gift feucht gemacht wird, denn sonst haftet es nicht an der Kleie. Die Masse wird im Felde mit einer Schaufel verteilt. Sehr gut gegen Heuschrecken ist das folgende kanadische Bekämpfungsmittel: 1 Teil Pariser Grün oder Arsenik, 2 Teile Salz, 40 Teile Pferdekot, Wasser in genügender Menge, um eine weiche, nicht wässerige Masse zu erhalten. Der Pferdekot soll möglichst frisch sein. Er wirkt ebenso anziehend als Kleie auf die Heuschrecken und hält das Gift besser fest. J. Dewitz (Geisenheim).

**Fuchs**, Die Borkenkäfer Kärntens und der angrenzenden Gebiete. (Naturw. Zeitschr. für Land- und Forstwirtschaft. 1905. Heft 6.)

Verf. stellte in Kärnten und den angrenzenden Gebieten von Borkenkäfern die Familien der Scolytini, Hylesini, Hylastini, Ipinini und Platypodidae in teilweise einer ganzen Anzahl von Gattungen und Arten fest, bezüglich deren Aufzählung und näherer Schilderung auf das Original verwiesen werden muß. Paul Ehrenberg (Breslau).

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Guéguen, F.**, Sur l'emploi des bleus pour coton et pour laine dans la technique mycologique. (Bull. Soc. mycolog. France Paris. T. XXI. 1905. p. 42—46.)

Die verschiedenen Baumwollenblau gestatten, in Milchsäure gelöst, den Mykologen, mitten in den Geweben und in fremden Elementen verschiedenster Art Mycelfäden von äußerster Feinheit festzustellen. Der Verf. hat methodisch die färbenden Eigenschaften einer Anzahl von Baumwollenblau und Wollenblau erprobt. Die Lösungen der Farbstoffe werden in der Kälte in einem Mörser hergestellt, indem man 15 cg auf 100 g Milchsäure nimmt. Nachdem die Flüssigkeiten filtriert waren, wurde ein Tropfen von ihnen an Mycelien verschiedener Arten versucht, nämlich an *Psalliotia campestris*, *Penicillium crustaceum*, *Cystopus cubicus*.

Eine große, vom Verf. hergestellte Tabelle (p. 44—45) zeigt, daß die Blau für Baumwolle C4B und CB von Poirrier und die Blau für Wolle I und VI von Bayer allein für die gewöhnlichen Zwecke zu verwenden sind; dem Blau C4B scheint der Vorzug zu gebühren.

Versuche, die Präparate zu erhalten, haben gezeigt, daß die Färbung mit C4B sich am besten in der Farbelösung selbst konserviert und ebenso in neutralem Glycerin nach vorgenommenem Auswaschen in destilliertem Wasser. Die verschiedenen Farbmischungen geben kein besseres Resultat als die einfachen Lösungen. Houard (Paris).

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Templin, H.**, Montanin. (Oesterreichische Brennereizeitung. Jahrg. III. 1905. No. 9.)

Verf. berichtet über seine guten Erfahrungen, die er bei Anwendung von Montanin als Desinfektionsmittel im Gärraum machte.

Kausch (Charlottenburg).

**Schaps, L.**, Zur Frage der Konservierung der Milch durch Formaldehyd, speziell zum Zweck der Säuglingsernährung. (Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. L. 1905. p. 247.)

Die Konservierung von Nahrungsmitteln durch Formaldehyd erhielt erst durch v. Behrings Vorschlag der Milchkonservierung durch dieses Mittel allgemeines Interesse. Früher schon hatte man Formaldehyd einzeln zur Konservierung von Butter, Erdbeeren, Erbsen, Weintrauben und Wein, in höherem Grade aber von Fleisch versucht. Letzteres

wurde bei längerer Einwirkung konzentrierteren Formaldehyds zwar steril, aber ungenießbar.

Das gleiche fand Ehrlich für Milch. Merkel fand bei Zusatz von 1 F.:5000 Milch dickflockigen Ausfall des Kaseins, ebenso Annet. Auf ein Gutachten von Ludwig hin verwarf der oberste österreichische Sanitätsrat die Milchkonservierung durch Formaldehyd, weil die Unschädlichkeit noch nicht erwiesen und die Reinheit der verwendeten Präparate später nicht zu kontrollieren sei.

Der innerlichen Anwendung des Formaldehyds in der ärztlichen Praxis standen seine ätzenden Eigenschaften entgegen, doch sind 3 Formalinvergiftungen, welche sämtlich mit Heilung endeten, bekannt.

v. Behring hat angenommen, daß Formaldehydzusatz zur Milch diese konserviere, ohne die Immunkörper zu schädigen.

Schaps stellt nun folgende Fragen auf: Ist es erwiesen, daß Formaldehydzusatz von 1:10000 bzw. 1:5000 auch bei längerem Gebrauch keine ätzende Wirkung auf die Darmschleimhaut ausübt, ferner daß ein solcher Zusatz, ebenso wie er das Wachsen der Milchsäurebakterien hemmen soll, auch das Wachstum anderer, unter Umständen pathogener Keime hemmt?

Verf. fand nun, daß die Gerinnung der Milch durch Formaldehydzusatz von 1:10000 gehemmt werden kann und zwar je nach der Lufttemperatur auf verschieden lange Zeit. Auch Verschließen der Milchflasche mittelst eines in Formalin getauchten, aber dann ausgewundenen Wattepfropfs, über welchen eine Gummikappe kommt, konserviert, die Milch nahm aber einen für den Verf. unerträglichen Geruch und Geschmack an; Verf. behauptet, einen Formaldehydzusatz von 1:40000 Milch noch zu schmecken.

Auf Glycerinagarplatten, welche mit roher und mit Formaldehydzusatz 1:5000 bzw. 10000 behandelter Milch angelegt wurden, zeigte sich, daß die Entwicklung der Kolonien aus Formalinmilch hintangehalten wurde. Wachstum von Staphylokokken wurde wie das der Milchbakterien durch Formaldehydzusatz anfangs gehemmt, aber in geringerem Grade als das der Milchbakterien.

Impfungen von 2 Meerschweinchen mit tuberkelbacillenhaltiger Milch, welche 1:5000 bzw. 10000 Formaldehydzusatz erhalten hatte, ergaben, daß die Tiere tuberkulös wurden. Auf Grund einer Erfahrung bei einem zur Sektion gelangten Kinde, welches im 5. Lebensmonat 20 Tage hindurch Milch mit Formaldehydzusatz von 1:10000 bekommen hatte, glaubt Verf., daß solche Milch Ulcera der Darmschleimhaut hervorzurufen vermöge.

Schill (Dresden).

**Dittmar, Schütte und Schüttekämpfung.** (Zeitschr. f. Forst- und Jagdwesen. Bd. XXXVII. Heft 6. 1905.)

Verf. weist zunächst darauf hin, daß eine wirksame Bekämpfung der Schüttekrankeheit noch kaum durchgeführt wird. Von seinen eigenen Beobachtungen und deren Ergebnis, daß nämlich das Bespritzen der jungen, 1½—6 Jahre alten Kulturen mit 1—1½-proz. Kupfersodalösung das richtigste Gegenmittel ist, sei das Folgende angeführt.

Saaten wurden erheblich stärker von der Krankheit befallen als Pflanzungen. Ebenso erwies sich bei genügender Bodenlockerung eine mäßige Samenmenge als gutes Vorbeugungsmittel, wogegen bei dichten Saaten die Schütte stärker auftrat. Aus allen diesen und anderen Erscheinungen ist zu schließen, daß für die Erkrankung an Schütte zu-



nächst eine gewisse Veranlagung der Pflanzen, die durch mangelhafte Raum-, Boden- und Ernährungsverhältnisse, vielleicht auch durch Frühfröste, hervorgerufen wird, bedingend ist. Dadurch erst findet der Krankheitserreger einen geeigneten Nährboden und kann sich von einem Ansteckungsherd rings verbreiten.

Den immer wieder erneuten Angriffen des Pilzes erliegen dann auch zuletzt gesunde, kräftige Exemplare, zumal wenn durch besonders günstige Bedingungen, so in erster Linie feuchtwarme Sommer, wohl auch warme, schneelose Winter der Schädling begünstigt wird.

Zur Abwehr ist zunächst die Erziehung starker Pflanzen durch dünne Saat, erforderlichenfalls auch Düngung besonders mit Stickstoff in Berücksichtigung zu ziehen. Wenn angängig, pflanze man in schüttelegefährdeten Revieren.

Weiter ist, um die so herangezogenen kräftigen Pflanzen wirksam zu unterstützen, das Bespritzen der jungen Kulturen mit Kupfersalzlösungen heranzuziehen, wobei die Kosten sich bei genügender Uebung der Leute, zweckmäßigen Vorkehrungen und größerer Ausdehnung des Spritzens bis auf  $4\frac{1}{4}$  M. für den Hektar herunterdrücken ließen. Hierüber sowie über die benutzten Spritzen — unter anderem wird die Deidesheimer Weinbergspritze empfohlen — finden sich eingehende Mitteilungen.

Von den Bespritzungsmitteln waren Kupferzuckerkalkbrühe und Schmarotzerbekämpfungsmittel Halali (eine Petroleummischung) völlig wirkungslos. Kupfersodabrühe, eine Lösung von Heufelder Kupfersoda, war ebenso wirksam wie Kupferkalkbrühe, aber bedeutend bequemer in der Herstellung, also vorzuziehen. Eine Konzentration von  $1-1\frac{1}{2}$  Proz. scheint bei einmaliger Bespritzung völlig auszureichen, wobei die Verwendung auf die Zeit von Mitte Juni bis August zu verlegen ist. Bei starkem Wind und Regen ist das Bespritzen natürlich zu unterlassen.

Paul Ehrenberg (Breslau).

## Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

### Allgemeines.

**Dickel, Otto**, Bisherige Veränderungen der Fauna Mitteleuropas durch Einwanderung und Verbreitung schädlicher Insekten. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. I. 1905. Heft 8. p. 321—325.)

**Reh**, Die 16. Jahresversammlung der amerikanischen praktischen Entomologen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 4. p. 229—233.)

—, Die Rolle der Zoologie in der Phytopathologie. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. I. 1905. Heft 7. p. 299—307.)

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Cache, Ar.**, Ueber die Frage der bakteriologischen Technik. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. 1905. N. 1/3. p. 47—52. 4 Fig.)

**Giemsa, G.**, Bemerkungen zur Färbung der Spirochaeta pallida (Schaudinn). (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXI. 1905. N. 26. p. 1026—1027.)

**Loos, A.**, Notes on intestinal worms found in African Pygmies. (Lancet. 1905. Vol. II. N. 6. p. 430—431.)

**Oppenheim, M.** und **Sachs, O.**, Eine einfache und schnelle Methode zur deutlichen Dar-

- stellung der *Spirochaete pallida*. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXI. 1905. N. 29. p. 1156.)
- Thesing, C.**, Ein Wort zu dem Aufsatz von Giemsa: Bemerkungen zur Färbung der *Spirochaete pallida*. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXI. 1905. N. 32. p. 1279. [Antwort von Giemsa p. 1279—1280.] )
- Tiraboschi, Carlo**, Osservazioni relative alla fluidicazione della gelatina per opera dei microorganismi. (Ann. d'igiène sperim. Vol. XV. 1905. Fasc. p. 429—451.)

## Systematik, Morphologie.

- Adie, J. B.** and **Alcock, A.**, On the occurrence of *Anopheles (Myzomyia) Listoni* in Calcutta. (Proc. of the R. Soc. Ser. B. Vol. LXXXVI. 1905. Biol. Ser. p. 319—321.)
- Balfour, Andrew**, A haemogregarine of mammals *H. Jaculi*. (Journ. of trop. med. Vol. VIII. 1905. N. 16. p. 241—244. 2 Fig.)
- Caulleury, Maurice** et **Lavallée, Alphonse**, Sur les larves ciliées produites par la femelle d'un *Orthonectide* (*Rh. sphiocomae* Giard). (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 27. p. 265—266.)
- Charpentier, P. G.**, *Sterigmatocystis nigra* et acide oxalique. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLI. 1905. N. 6. p. 367—369.)
- Dietel, P.**, Ueber die Arten der Gattung *Phragmidium*. 2. (Hedwigia. Bd. XLIV. 1905. Heft 6. p. 330—346. 2 Fig.)
- Fantham, H. B.**, *Lankesterella tritonis* n. sp., a *Haemogregarine* from the blood of the Newt, *Triton cristatus* (*Molge cristata*). (Zool. Anz. Bd. XXIX. 1905. N. 9. p. 257—263. 17 Fig.)
- Fuhrmann, O.**, Ueber ostasiatische Vogel-Cestoden. (Zool. Jahrb. Abt. f. System. Bd. XXII. 1905. Heft 3. p. 303—320.)
- Heymann, Georg**, Neue Distomen aus Cheloniern. (Zool. Jahrb. Abt. f. System. Bd. XXII. 1905. Heft 1/2. p. 81—100. 1 Taf. u. 2 Fig.)
- Klein, Walter**, Neue Distomen aus *Rana hexadactyla*. (Zool. Jahrb. Abt. f. System. Bd. XXII. 1905. Heft 1/2. p. 59—80. 1 Taf.)
- Laveran, A.**, Sur une hémamibe nouvelle de *Testudo pardalis*. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 26. p. 176—178. 5 Fig.)
- Magnus, P.**, Ueber die Gattung, zu der *Rhizopodium Dicksonii* Wright gehört. (Hedwigia. Bd. XLIV. 1905. Heft 6. p. 337—349. 3 Fig.)
- , Zwei parasitische *Harpogonium*-Arten und der Zusammenhang einiger Stilbeen mit *Ovularia* oder *Ramularia*. (Hedwigia. Bd. XLIV. 1905. Heft 6. p. 371—375. 5 Fig.)
- Moroff, Th.** und **Fiebiger, J.**, Ueber *Eimeria subepithelialis* n. sp. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. VI. 1905. Heft 2. p. 166—174.)
- Newstead, R.**, On the pathogenic ticks concerned in the distribution of disease in man, with special reference to the differential characters in *Ornithodoros moubata*. (Journ. of trop. med. Vol. VIII. 1905. N. 16. p. 246—247.)
- Noack, Fritz**, *Helminthosporium gramineum* Rabenh. und *Pleospora trichostoma* Wint. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 4. p. 193—205. 1 Taf.)
- Perrin, W. S.**, A preliminary communication on the life history of *Trypanosoma balbianii*. (Proc. of the R. Soc. Ser. B. Vol. LXXXVI. Biol. Ser. p. 368—375. 4 Fig.)
- Petri, L.**, Ulteriori ricerche sopra i batteri che si trovano nell' intestino della larva della Mosca olearia. (Atti d. R. Accad. dei Lincei. Anno CCII. 1905. Ser. 5. Rendic. Classe di fis. mat. e nat. Vol. XIV. Fasc. 7. p. 399—404.)
- Plahn, Herm.**, Die Fritfliege. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XII. 1905. N. 15. p. 225—226.)
- Turner, William**, On *Pennella balaenoptera*: a crustacean, parasitic on a Finner Whale. *Balaenoptera musculus*. (Trans. of the R. Soc. of Edinburgh. Vol. XLI. P. 2. 1904—05. p. 409—434.)

## Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

- Dewitz, J.**, Beobachtungen, die Biologie der Traubenmotte *Cochylis ambiguella* Hüb. betreffend. [Forts.] (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. I. 1905. Heft 7. p. 281—285; Heft 8. p. 338—347. 1 Taf. u. 13 Fig.)
- Effront, J.**, Ueber die Selbstverdauung der Hefe. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 32. p. 443—446. [Moniteur scientif. -Quenesville. 1905. p. 485].)
- Hirsch, Julius**, Der Einfluß von Formaldehyd auf Vermehrungsenergie und Gärungsenergie, sowie auf die Generationsdauer verschiedener Hefearten. [Forts.] (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jg. XXXIII. 1905. N. 34. p. 376—382. 10 Tab.)
- Mattei, Giovanni Ettore**, Per la storia dei tubercoli radicali delle Leguminose. (Malpighia. Anno XIX. 1905. Fasc. 4/5. p. 217—226.)
- Pampaloni, L.**, Sul comportamento del *Protococcus caldariorum* Magnus in varie soluzioni minerali e organiche. (Ann. di botanica. Vol. II. 1905. Fasc. 2. p. 231—250. 1 Taf.)

- Forges, Otto**, Ueber die Agglutinabilität der Kapselbakterien. (Wiener klin. Wehnschr. Jg. XVIII. 1905. N. 26. p. 691—693.)
- Rahn, Otto**, Die Zersetzung der Fette. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 2/3. p. 53—61.)
- von Baumer**, Die Verwendung der Gärmethoden im Laboratorium, ein Beitrag zur Kenntnis des Stärkesyrups. (Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. IX. 1905. Heft 12. p. 705—726.)
- Salmon, Ernest, S.**, On endophytic adaptation shown by *Erysiphe graminis* DC. under cultural conditions. (Proc. of the R. Soc. Ser. B. Vol. LXXVI. Biol. Sc. p. 366—368.)
- Vogel, J.**, Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes durch Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 2/3. p. 33—53.)
- Wright, Herbert**, Soil bacteria in relation to Agriculture. (Tropical Agriculturist. Vol. XXIV. 1905. N. 11. p. 116—119; N. 12. p. 139—145. 2 Taf.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

#### Luft, Wasser, Boden.

- Cavalier et Artus**, Dosage de l'ammoniaque dans les eaux potables. (Bull. soc. chim. de Paris. Sér. 3. T. XXXIII/XXXIV. 1905. p. 745—747.)
- Houston, A. C.**, Infektion von Schaltieren und dem Wasser des Themse-Aestuariums. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. 1905. N. 1/3. p. 33—45.)
- Müller, Oskar**, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen im Trinkwasser mittels chemischer Fällungsmethoden, insbesondere durch Fällung mit Eisenchlorid. Diss. med. Jena. 1905. 8°.
- Riche, Alf.**, L'épuration biologique des eaux d'égout. (Journ. de pharm. et de chim. Année XCVI. Sér. 6. T. XXII. 1905. N. 4. p. 162—172.)

#### Nahrungsmittel.

- Goske, A.**, Die Kurkuma-Reaktion auf Borsäure. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. X. 1905. Heft 4. p. 242—243.)
- Möser, Otto**, Zum qualitativen Nachweis der Borsäure. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. X. 1905. Heft 4. p. 243—245.)
- Panek, M. K.**, Bakteriologische und chemische Studien über die Barszcz genannte Gärung der roten Rüben. (Anz. d. Akad. Wiss. Krakau. Math.-nat. Kl. 1905. N. 1. p. 5—49.)

#### Milch, Molkerei.

- de Blasi, D.**, Sul passaggio degli anticorpi nel latte e loro riassorbimento per l'intestino del lattante. (Riv. di clin. pediatr. T. III. 1905. N. 1.)
- Findel, H.**, Das Verhalten des *Bact. coli* in roher und gekochter Milch. (Verh. Ges. Dtscher Naturf. u. Aerzte. 76. Vers. Breslau 1904. 2. T. 2. Hälfte. p. 559.)
- von Freudenreich, Ed.**, Ueber die Pasteurisierung der Milch. (Korresp.-Bl. f. Schweizer Aerzte. Jg. XXXV. 1905. N. 16. p. 521—523.)
- van Huellen, A.**, Die tuberkulöse Milch und ihre Schutzmaßregeln. (Gesundheit. Jg. XXX. 1905. N. 15. p. 463—468.)
- Messner, Hans**, Ueber Kindermilch. (Prager med. Wehnschr. Jg. XXX. 1905. N. 32. p. 448—450.)

#### Bier, Brauerei.

- Keil, H.**, Die im Juli 1905 untersuchten Biere. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 32. p. 446—448.)

### Inhalt.

#### Originalmitteilungen.

- Hasler, Alfred**, Kulturversuche mit *Crepis*- und *Centaurea-Puccinien*, p. 257.
- Krieg, Walther**, Versuche mit *Ranunculaceen* bewohnenden *Aecidien*, p. 258.

#### Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

- Henneberg, W.**, Bakteriologische Untersuchungen an säuernden und gärenden Hefenmaischen. (Ein Beitrag zur Kennt-

nis des Verhaltens des *Bacillus Delbrücki* bei verschiedenen Temperaturen), p. 260.

#### Referate.

- Aderhold, Rud.**, Impfversuche mit *Thielavia basicola* Zopf, p. 276.
- Aderhold, Rud.** und **Ruhland, W.**, Zur Kenntnis der Obstbaumsklerotinen, p. 275.
- Brick, C.**, Ueber das Kirschbaumsterben am Rhein, p. 271.

- Delacroix, G.**, La rouille blanche du tabac et la nielle ou maladie de la mosaïque, p. 272.
- Dop, P.**, Sur la biologie des Saprolegniées, p. 268.
- Fankhauser, F.**, Der Kiefernscüttepilz an der Arve, p. 270.
- Fletcher, James**, Canada depart. agr. Central exper. farm., p. 282.
- Fuchs**, Die Borkenkäfer Kärntens und der angrenzenden Gebiete, p. 282.
- Giard, A.**, La ponte des Libellules du genre *Lestes*, p. 280.
- Gonnermann**, Wurzelbrand, p. 273.
- Heim**, Der Reinlichkeitszustand künstlicher und natürlicher Mineralwässer, p. 266.
- Hermann**, Zur Kropfbildung bei der Eiche, p. 276.
- Hiltner, L.**, Mahnung zur Vorsicht beim Einkauf von La-Plata-Mais und von Reismehl, p. 271.
- Jacobi**, Eine Spinnmilbe (*Tetranychus ununguis* n. sp.) als Coniferenschädling, p. 270.
- Köck, G.**, *Septoria Lycopersici* auf Paradiespflanzen und *Phyllosticta Cyclaminis* auf *Cyclamen persicum*, p. 271.
- Kusserow, R.**, Die neuere Vervollkommnung des Milchsäureverfahrens, p. 267.
- Laubert, R.**, Eine neue Rosenkrankheit, verursacht durch den Pilz *Coniothyrium Wernsdorffiae*, p. 275.
- Lemée, E.**, Notes sur quelques Zoocécidies et maladies cryptogamiques récoltées lors de l'excursion de la Soc. Linnéenne de Normandie à Saint-Léonard-des-Bois, p. 279.
- , Sur des formes nouvelles de zoocécidies, p. 279.
- Lounsbury, C. P.**, Locust Poisons, p. 283.
- Lubimoff, L. v.**, Die Verbreitung des Hausschwammes in Rußland, p. 269.
- Macchiati, L.**, Note di biologia sul *Bacterium chlorometamorphicum*, p. 268.
- Marchal, P.**, Diagnose d'une Cécidomyie nouvelle vivant sur le Caroubier, p. 282.
- , La Cécidomyie des Caroubes, *Schizomyia Gennadii* Marchal, p. 281.
- Molliard, M.**, Structure de quelques Tylenchocécidies foliaires, p. 281.
- , A propos de la galle de l'Eriophyes Echii, p. 281.
- Muth, Franz**, Ueber den Birnenhexenbesen, p. 277.
- Nadson, G. und Raitschenko, A.**, Zur Morphologie von *Enteromyxa paludosa* Cienk., p. 277.
- Noack, F.**, Ein neuer Rübenschädling, p. 274.
- Pierre**, Note cécidologique, p. 279.
- , Sur l'éclosion des oeufs de *Lestes viridis* van der L., p. 279.
- , Observations cécidologiques, p. 279.
- Reiss, E.**, Die Katalase der Milch, p. 267.
- de Rocquigny-Adanson, G.**, Note cécidologique, p. 279.
- Saito, K.**, Untersuchungen über die atmosphärischen Pilzkeime, p. 266.
- , Ueber das Vorkommen von *Saccharomyces anomalus* beim Sakebrennen, p. 266.
- Schenk, M.**, Ueber Selbstverdauung einiger Hefearten (obergärrige Hefe, Brennerhefe, Kahlhefe), p. 266.
- Schellenberg, H. C.**, Zur Schüttekrankheit der Arve, p. 270.
- Schouteden, H.**, Les aphidocécidies paléarctiques, p. 280.
- Sigmund, Wilhelm**, Beiträge zur Kenntnis des Wurzelbrandes der Rübe, p. 273.
- Smith, R. E.**, The water-relation of *Puccinia Asparagi*. A contribution to the biology of a parasitic fungus, p. 270.
- Tubeuf, C. v.**, Die Milbenspinne an den Fichten, p. 276.
- , Die Hexenbesenkrankheit der Syringen in Bayern, p. 270.
- Uzel, H.**, Mitteilung über Krankheiten und Feinde der Zuckerrübe in Böhmen im Jahre 1904, p. 272.
- Vuillemin, P.**, Hyphoïdes et bactéroïdes, p. 267.
- , L'*Aspergillus fumigatus* est-il connu à l'état ascospore? p. 269.
- Wilmon, Newell**, The cotton caterpillar, p. 274.
- Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.**
- Guéguen, F.**, Sur l'emploi des bleus pour coton et pour laine dans la technique mycologique, p. 283.
- Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.**
- Dittmar**, Schütte und Schüttekämpfung, p. 284.
- Schaps, L.**, Zur Frage der Konservierung der Milch durch Formaldehyd, speziell zum Zweck der Säuglingsernährung, p. 283.
- Templin, H.**, Montanin, p. 283.
- Neue Litteratur**, p. 285.

Nachdruck verboten.

## Beitrag zur Kenntnis einiger Leuchtbakterien.

Von Josef Reinekt, Prag.

### I.

#### Einleitung.

Durch eine Reihe von Arbeiten von Molisch über Leuchtbakterien, insbesondere durch seine monographische Studie über „Leuchtende Pflanzen“<sup>1)</sup> wurden unsere Kenntnisse über die Photobakterien wesentlich vertieft und das Interesse für diese physiologisch so merkwürdige Gruppe lebhaft geweckt. Schon Molisch hat mehrfach gefühlt, daß die systematische Unterscheidung bezüglich mancher Arten, die zu den häufigsten und vielfach studierten gehören, eine sehr vage ist, daß Arten zusammengeworfen werden, die nicht zusammengehören, daß Arten so unvollkommen beschrieben sind, daß sie niemand mit Sicherheit zu erkennen vermag, und daß infolgedessen, wenn nicht bald eine sorgfältige Sichtung erfolgt, die Verwirrung immer größer werden wird. Es gilt dies vorzugsweise von den Arten *Micrococcus Pflügeri* Ludw., *Photobacterium phosphorescens* Beijerinck, *Photobacterium Pflügeri* Ludw. et Beijer. und *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch. Mit Ausnahme des letzten, dessen genaue Beschreibung wir Molisch verdanken, liegt keine den strengen Anforderungen der Bakteriologie entsprechende Beschreibung vor, so daß es nicht zu verwundern ist, wenn ihre Namen synonym gebraucht werden. Die vorliegende kleine Arbeit verfolgt den Zweck, die genannten Bakterien nach ihren morphologischen und physiologischen Eigentümlichkeiten zu studieren, um auf Grund dieser Studien über ihre Identität oder Verschiedenheit ein Urteil zu gewinnen. Auch habe ich mich bemüht, die systematische Stellung des *Photobacterium italicum* Foà et Chiapella aufzuklären.

Auf welcher Basis die Aufstellung mancher Species ruht, wird aus folgenden Stellen hervorgehoben. So schreibt Ludwig<sup>2)</sup>:

„Ich habe nun seit einer Reihe von Jahren sowohl die Phosphoreszenz der Fische als auch des Fleisches der Schlachtthiere nach verschiedenen Seiten hin untersucht und dabei gefunden, daß in beiden Fällen ein und derselbe charakteristische Spaltpilz der Urheber der Lichterscheinung ist, den ich nunmehr als *Micrococcus Pflügeri* glaube bezeichnen zu sollen.“

Als Beweis für die Behauptung, daß in beiden Fällen, bei Fisch und Fleisch, ein und derselbe Spaltpilz das Leuchten verursache, führt Ludwig seine Kulturversuche an:

„Am 26. Nov. 1882 infizierte ich frische Stücke Schweinefleisch, Kalb- und Rindfleisch mit phosphoreszierender Zoogloëa von einem leuchtenden Schellfisch, an dem die Phosphoreszenz noch die anfangs erwähnte sternartige Verteilung zeigte. Am 27. Nov. leuchteten alle drei Fleischsorten an der infizierten Stelle. Das Fleisch des

1) Molisch, H., Leuchtende Pflanzen. Jena 1904. Hier auch die gesamte Literatur.

2) Ludwig, F., *Micrococcus Pflügeri* Ludw. ein neuer photogener Pilz. (Hedwigia. Bd. XXIII. 1884. p. 33—37.)

Schellfisches leuchtete durchweg, nachdem es der Luft längere Zeit ausgesetzt. Am 29. Nov. leuchtete Rind-, Kalb- und Schweinefleisch über und über, letzteres besonders intensiv.“

Ich glaube nicht, daß man aus diesen Versuchen Ludwigs einen Schluß auf die Identität von *Micrococcus phosphoreus* Cohn (*Bacterium phosphoreum* [Cohn] Molisch) und *Micrococcus Pflügeri* Ludwig ziehen darf. Denn erstens legt Ludwig seinen Versuchen keine Reinkulturen zu Grunde, sondern die „phosphoreszierende Zoogloëa von einem leuchtenden Schellfisch“, die mit dem Messer abgekratzt war, enthielt ohne Zweifel eine Unmasse von Bakterien verschiedener Arten, darunter auch Leuchtbakterien, die auch nicht gerade *Micrococcus Pflügeri* gewesen sein müssen. Zwar schreibt Ludwig 3 Jahre später<sup>1)</sup>: „Die Kulturversuche vom Jahre 1882 wurden sodann 1885 wiederholt und erweitert, nachdem ich inzwischen mit dem Kochschen Verfahren vertraut geworden“, aber trotzdem unterläßt er es, uns eine Beschreibung des Leuchtbakteriums zu geben.

Zweitens, ein einfacher Kontrollversuch, bei welchem das Fleisch ungeimpft geblieben wäre, hätte ebenfalls Leuchten zeigen können; hierbei darf ich auf die Untersuchungen Molischs<sup>2)</sup> hinweisen, der gelehrt hat, daß das Leuchten des Fleisches, hervorgerufen durch *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch durchaus nichts Seltenes und Ungewöhnliches ist.

Drittens endlich braucht der *Micrococcus Pflügeri* Ludwig deshalb, weil er, auf Fleisch gebracht, darauf wächst und leuchtet, noch lange nicht der gewöhnliche Erreger des Leuchtens zu sein. In der Tat hat sich ja auch gezeigt, daß die spontan auf Seefischen vorkommenden Leuchtbakterien gewöhnlich<sup>3)</sup> gar nicht dem *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch, welches das Leuchten des Schlachtfleisches hervorruft, angehören.

An einer anderen Stelle der Schriften Ludwigs<sup>4)</sup> wird als Erreger des Leuchtens von Fleisch ein anderer Organismus bezeichnet, das *Photobacterium Pflügeri* Ludwig et Beijerinck, mit dem Beijerinck, der das Material von Ludwig erhielt, experimentiert hat. Der in der „Hedwigia“ beschriebene *Micrococcus Pflügeri* Ludwig wird mit *Photobacterium phosphorescens* Beijerinck identifiziert, von dem Ludwig<sup>5)</sup> sagt: „Es ist der häufigste Leuchtpilz toter Fische und tritt je nach dem Nährboden in Form von runden oder unregelmäßigen Kokken auf, öfter mit dunklem Zellkern“. Die Bezeichnung Zellkern läßt sich meiner Meinung nach hier, abgesehen davon, daß es wohl überhaupt unwahrscheinlich ist, daß man in einer Leuchtbakterie direkt den Zellkern sehen dürfte, solange nicht anwenden, als man nicht mit Sicherheit nachgewiesen hat, daß diesen dunklen Flecken wirklich die Funktionen von Zellkernen zukommen. Beijerinck<sup>6)</sup>,

1) Ludwig, F., Die bisherigen Untersuchungen über photogene Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. II. 1887. p. 402.)

2) Molisch, H., Ueber das Leuchten des Fleisches, insbesondere toter Schlacht-tiere. (Bot. Ztg. 1903. Heft 1.)

3) Ich habe zu wiederholten Malen von leuchtenden Seefischen die Erreger des Leuchtens abgeimpft, aber ich habe in Uebereinstimmung mit Molisch nie das *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch davon abgezüchtet.

4) Ludwig, F., Lehrbuch der niederen Kryptogamen. Stuttgart 1892. p. 72.

5) l. c.

6) Beijerinck, M. W., Sur l'aliment photogène et l'aliment plastique des bactéries lumineuses. (Extrait des Archives Néerlandaises. T. XXIV. p. 369—442. (p. 2 im Sonderabdruck).)

der zuerst auf sie aufmerksam gemacht hat, spricht nur die Möglichkeit aus, daß es „vielleicht Zellkerne“ sein könnten: „D'ordinaire on voit dans chaque bactérie une ou deux petites taches plus foncées qui représentent peut-être<sup>1)</sup> de noyaux cellulaires.“

Bevor ich die Ansichten Ludwigs über den *Micrococcus Pflügeri* verlasse, muß ich noch auf eine Notiz im *Prometheus*<sup>2)</sup> hinweisen, in welcher er sich auf seine Untersuchungen in der „Hedwigia“ beruft, diese als beweiskräftig anführt und die Behauptung aufrecht erhält, der Erreger des Leuchtens von Fisch und Fleisch sei ein und derselbe Organismus<sup>3)</sup>.

In derselben Notiz heißt es, der *Micrococcus Pflügeri* Ludwig sei identisch mit dem *Micrococcus phosphorescens* Cohn. In der Literatur ist nur ein *Micrococcus phosphoreus* Cohn und ein *Bacterium phosphorescens* Fischer, beziehungsweise *Photobacterium phosphorescens* Beijerinck bekannt; sonach scheint eine Verwechselung der Autor- oder Speciesnamen vorzuliegen.

Migula<sup>3)</sup> nennt den *Micrococcus phosphoreus* Cohn synonym mit *Micrococcus Pflügeri* Ludwig ex parte, und mit *Photobacterium phosphorescens* Beijerinck; an einer anderen Stelle dagegen wird das letztgenannte mit dem *Bacterium phosphorescens* Fischer identifiziert; dort heißt es<sup>4)</sup>: „*Bacterium phosphorescens* Fischer (synonym *Photobacterium phosphorescens* Beijerinck): . . . mit den von Pflüger, Lassar und Ludwig beschriebenen leuchtenden Mikrokokken ist er nicht<sup>5)</sup> identisch“.

In Lehmanns medizinischem Handatlas, Bd. X<sup>6)</sup> wird ein *Bacterium Pflügeri* (Lassar) Ludwig beschrieben, mit dem *Bacterium phosphorescens* Fischer identifiziert und als Erreger des Leuchtens von Fischen, Fleisch etc. bezeichnet.

## II.

### Eigene Untersuchungen.

#### A. Ursprung der Stammkulturen.

Die erste Aufgabe mußte es sein, einwandfreie Reinkulturen von *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch, *Photobacterium phosphorescens* Beijerinck und *Photobacterium Pflügeri* Ludwig et Beijerinck zu erhalten. Am 19. Mai 1903 bekam ich aus dem Krälschen Laboratorium in Prag schwach leuchtende Kulturen der zwei zuletzt genannten Leuchtbakterien, die auf ihre Reinheit geprüft und vollkommen tadellos befunden wurden. Um auch das *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch zu erhalten, legte ich am 11. Mai 1903 6 Proben Rindfleisch nach Molischs Methode aus. Am 12. Mai leuchteten alle 6 Fleischstücke. Hiervon wurde abgeimpft und am 22. Mai war ich im Besitze von einwandfreien Reinkulturen der von Rindfleisch stammenden Leuchtbakterie, welche nach der Arbeit Molischs, „Ueber das Leuchten des Fleisches“, bestimmt und als *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch erkannt wurde.

1) Im Original nicht gesperrt gedruckt.

2) Ludwig, F., Das Leuchten des Fleisches. (*Prometheus*. N. 781. p. 831.)

3) Migula, System der Bakterien. Jena 1900. Bd. II. p. 78.

4) —, l. c. p. 433, 434.

5) Im Original nicht gesperrt gedruckt.

6) Lehmann, Medizinische Handatlanten. Bd. X. München 1904. p. 251.

Ich hatte also vorrätig unzweifelhafte, wiederholt auf ihre Reinheit überprüfte Reinkulturen von:

- 1) *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch.
- 2) *Photobacterium phosphorescens* Beijerinck,
- 3) *Photobacterium Pflügeri* Ludw. et Beijer.

#### B. Versuche mit *Bacterium phosphorescens* Fischer (*Photobacterium phosphorescens* Beijer.).

a) Ueber die Erhöhung der Leuchtfähigkeit. Die von Krål bezogenen Kulturen zeigten im Anfange der Untersuchungen eine geringe Lichtstärke. Wenn man eine halbe Stunde im Dunkelmzimmer verweilte, so konnte man das Leuchten eben noch als schwachen Schimmer wahrnehmen. Zunächst versuchte ich das *Photobacterium phosphorescens* auf möglichst natürliche Nährmedien zu übertragen. Bei Experimenten mit Rind- und Pferdefleisch — hierbei wurde das auf dem Fleische eventuell vorkommende *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch immer durch oberflächliches Kochen, Sterilisieren u. s. w. getötet — habe ich nie günstige Resultate erzielt. Ebenso fielen Versuche, welche mit Süßwasserfischen, die ich in 3-proz. Kochsalzlösung absterben ließ, negativ aus. Als ich Seefische (*Crinilabus pavo* und *Sargus annularis*) eine halbe Stunde gekocht, mit sterilisiertem Messer zerschnitten und, in keimfreien Doppelpetrischalen, mit *Bacterium phosphorescens* Fischer geimpft hatte, leuchteten die geimpften Fischhälften nach 2 Tagen. Die Kontrollversuche, die zum Vergleiche ungeimpft geblieben waren, erschienen sämtlich dunkel. Von diesen leuchtenden Fischen züchtete ich Reinkulturen ab und diese leuchteten etwas stärker als die Stammkultur. Eine erhöhte Leuchtkraft erhielt ich auch, wenn ich der Nährgelatine Glycerin zusetzte, von dem diese Leuchtbakterie bis zu 2 Proz. ohne Schaden verträgt. Solche Kulturen leuchteten beinahe so stark wie die von *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch und das Leuchten hielt lange Zeit (bis 2 Monate) an.

b) Ueber Eigenbewegung. In den Abhandlungen, die zu verschiedenen Zeiten über das *Bacterium phosphorescens* geschrieben wurden, wird diesem Mikroorganismus bald Eigenbewegung zugestanden, bald wird sie ihm abgesprochen. James Kunz<sup>1)</sup> stellte 2-, 3- und 4-proz. Meersalzlösungen unter Zusatz von  $\frac{1}{4}$  Proz. Pepton her und sterilisierte sie in der gewohnten Weise. Als er die Mikroben von der Gelatine in diese Lösungen übertrug, sie bei Zimmertemperatur stehen ließ und nach 20 Stunden unter dem Mikroskop untersuchte, sollen die Bakterien Bewegung gezeigt haben. Tollhausen<sup>2)</sup> konnte nie Bewegung beobachten, während Beijerinck<sup>3)</sup> in Meerwasser Eigenbewegung gesehen haben will.

Um festzustellen, ob das *Bacterium phosphorescens* Fischer Eigenbewegung besitzt oder nicht, wurden zu verschiedenen Zeiten die Kulturversuche nach Kunz und Beijerinck wiederholt. Ich zog ferner den Organismus in Bouillons von verschiedener Zusammensetzung,

1) Kunz, J., Bakteriologisch-chemische Untersuchungen einiger Spaltpilzarten. [Inaug.-Diss.] 1888. p. 19.

2) Tollhausen, P., Untersuchungen über *Bacterium phosphorescens* Fischer. [Inaug.-Diss.] Würzburg 1889. p. 19.

3) Beijerinck M. W., Sur l'aliment photogène et l'aliment plastique des bactéries lumineuses. (Extrait des Archives Néerlandaises. T. XXIV. p. 369—442. p. 2 des Sonderabdruckes.)



in Salzmilch, auf Agar, Kartoffeln u. ä., doch nie konnte Eigenbewegung beobachtet werden. — Die Brownsche Molekularbewegung wurde immer gesehen. — Um diese Resultate noch einigermaßen zu stützen, wurden eine große Anzahl Geißelfärbungspräparate nach der Loefflerschen Methode hergestellt; in keinem Präparate zeigten sich Geißeln. Als ich dann Peppers<sup>1)</sup> vorzügliches Verfahren zur Darstellung der Geißeln kennen gelernt hatte, wendete ich auch diese Methode an, konnte aber keine Geißeln nachweisen, trotzdem sie sich bei anderen Geißelbakterien mit demselben Verfahren sehr gut nachweisen ließen. In Anbetracht meiner Kulturversuche und gestützt auf die negativen Ergebnisse bei den Geißelfärbungen, glaube ich mit Recht behaupten zu können, daß dem *Bacterium phosphorescens* Fischer jede Eigenbewegung fehlt.

c) Nach der Sterilisation von Gelatineeprouvetten — die Gelatine war ursprünglich ganz klar — bemerkte ich, daß diese getrübt worden war. Da ich mich erinnerte, daß Tollhausen<sup>2)</sup> ein ähnlicher Fall vorgekommen war, so wurde die Gelatine zu Versuchen verwendet. Sterilisierte Doppelpetrischalen wurden mit getrübtter Gelatine beschickt, und nach dem Erstarren wurden in jeder Schale 4 Impfstiche gezogen und zwar mit *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch, *Bacterium phosphorescens* Fischer, *Bacterium Pflügeri* (Ludwig) Reinelt und *Pseudomonas italica* (Foà et Chiapella) Reinelt. Die Striche entwickelten sich gut und nach 4 Tagen zeigte sich, daß um die Striche des *Bacterium phosphorescens* Fischer und *Bacterium Pflügeri* (Ludwig) Reinelt die Gelatine in einer Breite von ungefähr 2 mm geklärt war. *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch und *Pseudomonas italica* (Foà et Chiapella) Reinelt hatten keinen klärenden Einfluß.

Unter dem Mikroskop, Reichert, Vergr. 50, sah die Trübung aus wie eine Menge unregelmäßig gestalteter, gelblicher Körnchen, die sich beim Zusatz von Salzsäure ohne Aufbrausen lösten. Versuche, bei künstlicher Trübung durch Zusatz von Kali- oder Natronlauge eine Klärung durch die Bakterien zu erhalten, blieben erfolglos. Es gelang mir bis heute nicht, die Ursache der Trübung mit Sicherheit festzustellen. Daß sie mit der Alkaleszenz in irgend einer Verbindung steht, glaube ich wohl behaupten zu können. Es wäre zu wünschen, hier endgültige Klärung zu erlangen, da man nach der Erkenntnis der Trübungsursache diese als weiteres Unterscheidungsmittel heranziehen könnte.

#### C. Versuche mit *Bacterium Pflügeri* (Ludwig) Reinelt. (*Photobacterium Pflügeri* Ludw. et Beijer.)

Ueber Erhöhung der Leuchtfähigkeit. Beijerinck<sup>3)</sup> bezeichnet das *Photobacterium Pflügeri* Ludwig et Beijerinck als „le plus lumineux de tous les microbes lumineux connus jusqu'ici“. Die Reinkultur, welche ich von Král erhalten hatte, zeichnete sich aber durchaus nicht durch starke Leuchtkraft aus. Da die abgeimpften

1) Peppeler, A., Ein einfaches Verfahren zur Darstellung der Geißeln. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. p. 345.)

2) Tollhausen, P., Untersuchungen über *Bacterium phosphorescens* Fischer. [Inaug.-Diss.] Würzburg 1889. p. 12: „In trüber Gelatine — die Trübungsursache war vollständig unbekannt, da die Gelatine ganz wie gewöhnlich hergestellt wurde — fand einigemal partielle Aufhellung in der Umgebung der Kultur statt“.

3) Beijerinck, M. W., l. c.

Gelatine- und Agarkulturen nur sehr schwaches Leuchten zeigten, wurde der Versuch gemacht, die Mikroben unter möglichst natürliche Bedingungen zu bringen, um ihnen so ihre ursprüngliche Leuchtkraft wiederzugeben.

1) Große Stücke von Rindfleisch wurden mit sterilisiertem Messer zerschnitten, um dadurch Schnittflächen zu erhalten, welche frei von *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch wären. Von diesen Fleischschnitten wurde die Hälfte mit *Bacterium Pflügeri* (Ludwig) Reinelt geimpft — teils ohne Zusatz, teils mit Salz bestreut —, die andere Hälfte blieb unter gleichen Bedingungen ungeimpft. Das Fleisch lag in sterilisierten Doppelschalen. Am zweiten Tage leuchteten alle Fleischstücke, die geimpften wie die ungeimpften, über und über. Eine Reinkultur, welche von einem ungeimpften leuchtenden Fleischstücke abgezüchtet wurde, zeigte, daß das *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch die Ursache des Leuchtens war.

2) Stücke von magerem Rindfleisch wurden auf 10 Minuten in siedendes Wasser oder in siedende 3-proz. Kochsalzlösung gelegt. Dann wurden die Stücke mit sterilisiertem Messer geteilt; die eine Hälfte des innen noch rohen Fleisches blieb ungeimpft, die andere wurde mit *Bacterium Pflügeri* geimpft und in sterilisierte Schalen gelegt. Da sich im Verlaufe von 8 Tagen kein Leuchten zeigte, wohl aber die stinkende Fäulnis eintrat, wurde der Versuch unterbrochen.

3) Vogelgläschen, mit dem Deckel einer Petri-Schale bedeckt, wurden im Heißluftsterilisator sterilisiert, mit Rindfleischstücken beschickt und, um das *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch zu töten, durch 6 Stunden einer Temperatur von  $37^{\circ}\text{C}$  ausgesetzt<sup>1)</sup>. Nach dem Auskühlen wurde der eine Teil geimpft, der andere blieb ungeimpft. Kein Leuchten.

4) Schinkenschnitten, Wurstschnitten, Süßwasserfische u. s. w. zeigten, mit *Bacterium Pflügeri* (Ludwig) Reinelt geimpft, kein Leuchten.

5) Es war von vornherein nicht einzusehen, warum das *Bacterium Pflügeri* (Ludwig) Reinelt, das auf Fleischgelatine mit Salzzusatz wächst und wenigstens schwach leuchtet, auf Fleisch überhaupt nicht zu leuchten vermöge. Es war ja denkbar, daß die Veränderungen, welche beim Kochen, beim längeren Aussetzen einer trockenen Luft von  $37^{\circ}\text{C}$  mit dem Fleische vor sich gehen, ein Leuchten hintanhalteten. Daher war der folgende Versuch, der öfters wiederholt wurde, darauf berechnet, die natürlichen Bedingungen im Fleische möglichst zu erhalten. Ein Stück Schweinefleisch wurde von Knochen befreit, mit Kochsalz eingerieben, auf 5 Stunden in einer mit nassem Filterpapier ausgekleideten niedrigen feuchten Kammer einer Temperatur von  $37^{\circ}$  ausgesetzt. — Das Fleisch lag, um eine direkte Berührung mit dem Wasser zu verhindern, in einem Vogelgläschen. — Nach dieser Zeit wurde es mit sterilisiertem Messer in 6 Stücke zerlegt, in sterilisierte Doppelschalen gegeben und mit sterilisierter 3-proz. Kochsalzlösung übergossen. Hierauf impfte ich 4 Stücke mit *Bacterium Pflügeri* (Ludwig) Reinelt, die zwei restlichen ließ ich zur Kontrolle ungeimpft. Als der Versuch nach 18 Stunden in der Dunkelkammer betrachtet wurde, konnte man bei den geimpften Stücken bereits ein schwaches Leuchten bemerken; die ungeimpften Kontrollversuche erschienen dunkel. Im Laufe der nächsten

1) Nach Molisch, L. d. Fl. p. 15 liegt nämlich die obere Lebensgrenze für das *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch bei  $30^{\circ}\text{C}$ .

Tage wurde das Leuchten stärker und hielt 9 Tage hindurch an. (Zeit der Versuchsanstellung März.)

#### D. Beschreibung der Bakterien.

Da bislang von dem *Photobacterium Pflügeri* Ludwig et Beijerinck und dem *Photobacterium phosphorescens* Beijerinck genaue, den strengen Regeln der Bakteriologie genügende Beschreibungen fehlen, so werden im folgenden diese beiden Mikroorganismen beschrieben. Das *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch wurde von Molisch bereits beschrieben. Obwohl ich dieser genauen Beschreibung, wie sie Molisch gegeben hat, wesentlich nichts Neues hinzuzufügen habe, so will ich dennoch der besseren Uebersicht und des Vergleiches halber in dem Folgenden speziell meine eigenen Erfahrungen mitteilen, die sich mit denen von Molisch decken.

##### 1. *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch.

Synonyma: *Micrococcus phosphoreus* Cohn.

Nach Migula<sup>1)</sup> synonym: *Micrococcus lucens* v. Tieghem, *Micrococcus Pflügeri* Ludw. ex parte und *Photobacterium phosphorescens* Beijerinck.

Gestalt und Größe: Kokken und Stäbchen, oft beide Formen in ein und derselben Kultur. Kokken 1,8–2,4  $\mu$  im Durchmesser. Stäbchen 2,7–3,9  $\mu$  lang und 1,8–2,4  $\mu$  breit. Größenbestimmung nach Messungen in Anilinblauwasser.

Eigenbewegung: fehlt.

Färbbarkeit: Leicht färbbar mit gewöhnlichen Anilinfarbstoffen (Fuchsin, Gentanaviolett, Methylenblau). Nach Gram so gut wie nicht färbbar.

Sauerstoffbedürfnis: Aërob, leuchtet nur bei Zutritt von freiem Sauerstoff.

Lichtentwicklung: Leuchtet, besonders auf Salznährböden, in grünlichweißem Lichte.

Temperaturbedürfnis: Gedeiht und leuchtet gut bei Zimmertemperatur.

Gelatineplatte<sup>2)</sup>: 5-tägige Kultur bei Zimmertemperatur.

a) Natürliche Größe: Aufliegende Kolonien 0,5–1 mm Durchmesser, rund, weißlich, durchscheinend. Submerse Kolonien kleiner.

b) 50-fache Vergrößerung, im durchfallenden Lichte: Rund, ganzrandig, feinkörnig, erscheint aus konzentrischen Kreisringen aufgebaut. Zentrum immer bräunlich, hierauf Ringe von hellerer (gelber oder graugelber) Farbe, öfters mit radiärstrahliger Struktur.

Gelatinestich: 6-tägige Kultur, Auflage gelblichweiß, feuchtglänzend, mit unregelmäßigem Rand. Im Stichkanal körniges Wachstum.

Gelatinestrich: 5-tägige Kultur, Ausbreitung mäßig, Strich weißlich, feuchtglänzend, durchscheinend, leicht verschmierbar, Rand wellig. Gelatine in der Umgebung des Striches zuweilen weißlich getrübt.

Agarplatte: 10-tägige Kultur, weißlich, feuchtglänzend; bietet den anderen hier beschriebenen Organismen gegenüber keine wesentlichen Unterscheidungsmerkmale.

Agarstich: 10-tägige Kultur, Auflage gut ausgebreitet, weißlich, feuchtglänzend, im Stichkanal körniges Wachstum.

Agarstrich: 10-tägige Kultur, Entwicklung gut, Strich weiß, feuchtglänzend, leicht verschmierbar. Kondensationswasser trüb.

Bouillonkultur: Nach 24 Stunden trüb, nach 2–4 Tagen weißer Bodensatz, der sich beim Schütteln zerteilt. Kein Häutchen.

Salzmilch (3 Proz. NaCl): Leuchtet schön und lange.

1) Ueber den *Micrococcus lucens* v. Tieghem habe ich in der Literatur keine näheren Angaben gefunden. *Photobacterium phosphorescens* Beijerinck hat sich als selbständiger Organismus erwiesen und wurde *Bacterium phosphorescens* Fischer genannt. Was unter *Micrococcus Pflügeri* Ludwig verstanden wurde, läßt sich wohl heute nicht mehr mit Sicherheit feststellen, da ein Verfahren zur Herstellung von Reinkulturen damals noch unbekannt war.

2) Die Gelatine aller hier beschriebenen Kulturen war wie folgt hergestellt:  $\frac{1}{8}$  kg feingehacktes Rindfleisch wurde mit 1 l destilliertem Wasser übergossen und auf 24 Stunden in den Keller gestellt. Dann wurde das Fleischwasser mit dem hineinge-  
preßten Fleischsaft  $\frac{1}{2}$  Stunde im Dampfsterilisator gekocht, filtriert und mit 10 g Pepton und 30 g Natriumchlorid versetzt und so lange im Sterilisator gekocht, bis das Pepton gelöst war. Nachdem in dieser Fleischpepton-Salzbouillon 100 g Gelatine aufgelöst worden waren, wurde die Lösung mit Normalnatronlauge schwach alkalisch gemacht, mit Eiweiß geklärt, filtriert, mit 0,5-proz. Glycerin versetzt und sterilisiert.

**Chemische Leistungen:**

- 1) Verflüssigt die Gelatine nicht.
- 2) Gelatine- und Agarkulturen riechen nach Trimethylamin.
- 3) Entwickelt in einer 1-proz. Traubenzuckergelatine (Schüttelkultur) schon nach 24 Stunden reichlich Gasblasen.

In 2- und 3-proz. Traubenzuckergelatine beginnt die Gasentwicklung erst nach 2 bzw. 5 Tagen und ist schwächer.

- 4) Im Gärungskölbchen entwickelt er in einer 1-proz. Traubenzuckerbouillon bereits nach 24 Stunden Gas, von dem der größere Teil Kohlensäure, der Rest ein brennbares Gas ist.

Kartoffelkulturen: Auf Scheiben mit Salz, ohne Alkali wächst und leuchtet er schwach.

Sporenbildung: Wurde nie beobachtet.

## 2. *Bacterium phosphorescens* Fischer.

Synonyma: *Photobacterium phosphorescens* Beijerinck.

Nach Ludwig<sup>1)</sup> sind damit noch synonym: *Micrococcus phosphoreus* Cohn, *Bacterium lucens* Nüesch, *Micrococcus Pflügeri* Ludw.

Gestalt und Größe: Kokken und Stäbchen, häufig beide Formen in derselben Kultur. Kokken 1,8–2,7  $\mu$  im Durchmesser; Stäbchen 2,7–3,6  $\mu$  lang, 1,2–1,8  $\mu$  breit. Nach Messungen in Anilinblauwasser.

Eigenbewegung: Fehlt.

Färbbarkeit: Leicht färbbar mit Anilinfarbstoffen (Methylenblau, Fuchsin, Gentianaviolett etc.). Bei der Gramschen Methode bleibt nach dem Entfärben mit Alkohol ein sehr schwacher graublauer Ton zurück.

Sauerstoffbedürfnis: Leuchtet nur bei Zutritt von freiem Sauerstoff.

Lichtentwicklung: Leuchtet, besonders auf Salznährböden. Durch Zusatz von Glycerin bis zu 2 Proz. wird das Leuchten begünstigt. Licht schwächer als bei *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch.

Temperaturbedürfnis: Wächst und leuchtet bei Zimmertemperatur gut.

Gelatineplatte: 5-tägige Kultur bei Zimmertemperatur.

- a) Natürliche Größe, 0,3–0,5 mm, rund, weißlich, durchscheinend.

- b) 50-fache Vergrößerung im durchfallenden Lichte: kreisrund, ganzrandig, konzentrisch aufgebaut, Zentrum braun, hierauf scharf abgegrenzte Kreise von hellerer Farbe.

Gelatinestich: 6-tägige Kultur, Auflage gelblichweiß, feuchtglänzend, wenig ausgebreitet, im Stichkanal spärlicheres Wachstum als bei *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch.

Gelatinestrich: 5-tägige Kultur, Strich wenig ausgebreitet, feuchtglänzend, leicht verschmierbar, Rand leicht gewellt.

Agarplatte: Bietet keine wesentlichen Unterscheidungsmerkmale.

Agarstich: 10-tägige Kultur, Auflage mäßig ausgebreitet, dünn, weißlich, feuchtglänzend. Im Stich körneliges Wachstum.

Agarstrich: 5-tägige Kultur, Entwicklung gut, von *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch nicht wesentlich unterschieden.

Bouillonkultur: Nach 24 Stunden trüb, nach 2–4 Tagen weißlicher Bodensatz, kein Häutchen.

Milchkultur mit 3 Proz. Salzzusatz: Zeigte im Verlaufe von 3 Wochen kein Leuchten.

**Chemische Leistungen:**

- 1) Verflüssigt die Gelatine nicht.

1) *Micrococcus phosphoreus* Cohn ist synonym mit *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch, ist also aus der Reihe der hier genannten Synonyma zu streichen. Was *Bacterium lucens* Nüesch und *Micrococcus Pflügeri* Ludwig ist, kann man heute nicht mehr feststellen, da verlässliche Reinkulturen derselben fehlen. Es wäre wünschenswert, wenn einmal von autoritativer Seite die Anregung ausginge, alle Bakterien, die äußerst lückenhaft und oberflächlich beschrieben sind, aus der Literatur zu streichen, ein Grundsatz, wie ihn Wehmer bei Bearbeitung der Gattung *Aspergillus* befolgte, und wie ihn Stoll in seinen „Beiträgen zur morphologischen und biologischen Charakteristik von *Penicillium*-Arten“ vorschlägt: „Für die damalige Zeit mag man derartige Beschreibungen gelten lassen, heute kann man diese Pilze aber nicht mehr in so allgemeinen Zügen charakterisieren, und man muß notwendig den Grundsatz befolgen, daß im Interesse einer klaren Uebersicht alles unkenntlich Beschriebene ausgeschieden oder doch als unsicher abseits gestellt wird“. Zitiert nach Wehmers Referat über Stoll, O., Beiträge zur morphologischen und biologischen Charakteristik von *Penicillium*-Arten. Siehe Botan. Zeitung. 24. Mai 1905. p. 171.

2) Agarkulturen zeigen keinen charakteristischen Geruch.

3) Entwickelt in 1-proz. Traubenzuckergelatine nach 2½ Tagen mäßig viele Gasblasen (schwächer als bei *Bacterium phosphoreum* [Cohn] Molisch), in 2-proz. Traubenzuckergelatine nach 5 Tagen sehr wenig, in 3-proz. innerhalb von 6 Tagen keine Gasblasen.

Kartoffelkultur mit Salz ohne Alkali: Entwicklung und Leuchten sehr schwach. Strich bräunlich.

Sporenbildung: Wurde nie beobachtet.

### 3. *Bacterium Pflügeri* (Ludwig) Reinelt.

Synonyma<sup>1)</sup>: *Photobacterium Pflügeri* Ludwig et Beijerinck.

Gestalt und Größe: Kokken und Stäbchen, häufig in Häufchen angeordnet. Nicht selten beide Formen in ein und derselben Kultur. Kokken 1,2–1,8 µ im Durchmesser, Stäbchen 1,8–3 µ lang und 1,2–1,8 µ breit, gemessen in Anilinblauwasser.

Eigenbewegung: Fehlt.

Färbbarkeit: Färbt sich gut mit Anilinfarbstoffen (Fuchsin, Methylenblau, Gentianaviolett). Bei der Färbung nach Gram bleibt nach dem Entfärben mit Alkohol nur ein ganz schwacher graublauer Ton zurück.

Sauerstoffbedürfnis: Wächst aerob gut, anaerob ist die Entwicklung sehr schwach, leuchtet nur bei Zutritt von Sauerstoff.

Lichtentwicklung: Leuchtet schwächer als *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch, Salzzusatz begünstigt das Leuchten, Glycerinzusatz scheint es zu beeinträchtigen.

Temperaturbedürfnis: Wächst und leuchtet bei Zimmertemperatur gut.

Gelatineplatte: 5-tägige Kultur bei Zimmertemperatur.

a) Natürliche Größe: Kolonien etwa 0,3–0,5 mm im Durchmesser, rund, weißlich, durchscheinend.

b) 50-fache Vergrößerung im durchfallenden Lichte: Aufliegende Kolonien stets dunkelfarbig (dunkelbraun, dunkelgraubraun) rund, ganzrandig, körnig, submerse Kolonien heller gefärbt, mit dunklerem Zentrum.

Gelatinestich: Auflage wenig ausgebreitet, feuchtglänzend, gelblichweiß, im Stichkanal spärliches Wachstum.

Gelatinestrich: 5-tägige Kultur bei Zimmertemperatur, Strich wenig ausgebreitet, durchscheinend, weißlich, feuchtglänzend, Rand wellig. Konsistenz bis zu einem Alter von 6–8 Tagen schleimig, fadenziehend<sup>2)</sup>; nach dieser Zeit wie Butter verschmierbar, sehr alte Kulturen brüchig, in Brocken abhebbar.

Agarplatte: Bietet keine wesentlichen Unterscheidungsmerkmale.

Agarstich: 10-tägige Kultur bei Zimmertemperatur, Auflage sehr mäßig ausgebreitet, weißlich, feuchtglänzend. Im Stichkanal spärlich körniges Wachstum.

Agarstrich: 5-tägige Kultur, dem Aussehen nach von *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch nicht wesentlich unterschieden. Konsistenz fadenziehend.

Bouillonkultur: Nach 24 Stunden trüb, nach 2 Tagen weißlicher Bodensatz, der sich beim Schütteln in einem langen Faden durch die Epruvette zieht.

Salzmilch (3 Proz. NaCl): Im Laufe von 3 Wochen kein Leuchten.

Chemische Leistungen:

1) Verflüssigt die Gelatine nicht.

2) Agarkulturen zeigen keinen charakteristischen Geruch.

3) Entwickelt in 1-proz. Traubenzuckergelatine (Schüttelkultur) nach 3½ Tagen mäßig viele Gasblasen, in 2-proz. Traubenzuckergelatine zeigen sich erst nach 5 Tagen wenige, in 3-proz. innerhalb von 6 Tagen überhaupt keine Gasblasen.

4) Im Gärungskölbchen entwickelt es aus einer 1-proz. Traubenzuckerbouillon erst nach 6–8 Tagen Gas.

Kartoffelkultur: Auf Kartoffelscheiben mit Salz ohne Alkali wächst und leuchtet es gut; Strich gelblich, in der Mitte bräunlich.

Sporenbildung: Wurde nie beobachtet.

Wenn wir die gegebenen Beschreibungen von *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch, *Bacterium phosphorescens* Fischer

1) Lehmann, L. c., führt ein *Bacterium Pflügeri* (Lassar) Ludwig an und identifiziert es mit *Bacterium phosphorescens* Bernhard Fischer. Diese Bezeichnung ist willkürlich und meines Wissens durch keine einschlägige Arbeit berechtigt. Wenn damit der Organismus gemeint ist, den Beijerinck *Photobacterium Pflügeri* genannt hat, so sei hier bemerkt, daß dieses mit *Bacterium phosphorescens* Fischer nicht identisch ist.

2) Beim Abimpfen kann man mit der Nadel schleimige Fäden bis zu 1 cm Länge ziehen. Dadurch von den anderen hier beschriebenen Bakterien leicht zu unterscheiden.

und *Bacterium Pflügeri* (Ludwig) Reinelt vergleichen, so geht daraus hervor, daß wir es hier mit drei verschiedenen Leuchtbakterien zu tun haben; der besseren Uebersicht wegen wurden in der nachfolgenden Tabelle die genannten Bakterien in den Hauptunterscheidungsmerkmalen einander gegenübergestellt.

Uebersichtstabelle über die Unterscheidungsmerkmale der drei hier genannten Bakterien.

	<i>Bacterium phosphoreum</i> (Cohn) Molisch	<i>Bacterium phosphorescens</i> Fischer	<i>Bacterium Pflügeri</i> (Ludwig) Reinelt
Salzmilch (3 Proz. NaCl)	leuchtet schön und lange	leuchtet nicht	leuchtet nicht
Traubenzucker	wird unter starker Gasbildung leicht und schnell zersetzt	wird unter spärlicher Gasbildung langsam und schwer zersetzt	wird unter spärlicher Gasbildung langsam und spärlich zersetzt
Geruch	hat charakteristischen Trimethylamingeruch	hat keinen charakteristischen Geruch	hat keinen charakteristischen Geruch
Kartoffelscheiben mit Salz ohne Alkali	wächst und leuchtet wenig	wächst und leuchtet wenig	wächst und leuchtet gut
Kolonieen der Gelatineplatte 50-fach vergrößert	hellfarbig mit braunem Zentrum, konzentrischer Aufbau	hellfarbig mit braunem Zentrum, konzentrischer Aufbau	dunkelfarbig, braun oder graubraun, undeutlich oder gar nicht geschichtet
Konsistenz der jungen Kulturen	butterweich, leicht verschmierbar	butterweich, leicht verschmierbar	schleimig, fadenziehend

### III. Anhang.

#### A. Versuche mit *Pseudomonas italica* (Foà et Chiapella) Reinelt.

(Bezogen aus dem Laboratorium des Herrn Dozenten Král in Prag.)

Ueber den Nachweis der Geißeln. Diese Bakterie ist lebhaft beweglich. Sollte die einer Salzgelatine- oder Agarkultur entnommene Probe keine Eigenbewegung zeigen, so genügt es, den Organismus in eine 3-proz. Salzbouillon zu übertragen. Wenn man dann im hängenden Tropfen beobachtet, so sieht man die Bakterien mit großer Schnelligkeit durch das Gesichtsfeld schwimmen. Ihre Bewegung ist keine gleichmäßige, sondern sie rotieren im Vorwärtsschwimmen um ihre Längsachse und führen häufig zur gleichen Zeit noch tolle Sprünge aus. Der Nachweis der Geißeln war besonders im Anfange der Untersuchungen sehr schwierig. Ich habe hierzu die Beizen von Loeffler<sup>1)</sup>, Bunge<sup>2)</sup> und Cörner<sup>3)</sup> verwendet, habe damit aber nie befriedigende Resultate erzielt. Viel einfacher gestaltete sich die Sache, als ich Pepplers<sup>4)</sup> Arbeit über den Geißelnachweis kennen gelernt hatte. Abgesehen von den in der Vorschrift angegebenen Verhaltungsmaßregeln sei in Ueber-

1) Lehmanns medicin. Handatlas. Bd. X. Jena 1904. p. 560.

2) Lehmann, l. c. p. 561.

3) Fischer, A., Untersuchungen über Bakterien. (Separatabdruck aus den Jahrb. f. wissenschaftl. Bot. Bd. XXVII. Heft 1. p. 82.)

4) Peppler, A., Ein einfaches Verfahren zur Darstellung der Geißeln. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. p. 345.)

einstimmung mit den Erfahrungen von A. Fischer<sup>1)</sup> noch bemerkt, daß die Bakterienanschwemmung nicht mit Wasser, sondern mit sterilisierter 3-proz. Kochsalzlösung hergestellt werden muß. Ferner wurde die Färbezeit für Karbolgentianaviolett auf 5 Minuten, für Karbolfuchsin auf mehrere Stunden ausgedehnt. Nach kurzem Herumprobieren gelang es mir auf diese Weise, eine sehr feine Endgeißel nachzuweisen, welche 3–4mal so lang ist als das Stäbchen. Die von Pepppler angegebene Reinigung der Objektträger und nicht zu alte Kulturen sind unumgängliche Bedingung für das Gelingen der Geißelfärbung. Färbungen, die ich mit einer Beize, welche bereits über 1/2 Jahr gestanden war, ausführte, fielen ebenso präzise aus, als ob sie mit ganz frischer Beize gemacht worden wären; ein Beweis für die Vorzüglichkeit der Peppplerschen Methode.

Im folgenden sei die Beschreibung dieser von Foà und Chiapella auf einem Stück Eierkuchen gefundenen Leuchtbakterie mitgeteilt.

### *Pseudomonas italica* (Foà et Chiapella) Reinelt.

Synonyma: *Photobacterium italicum* Foà et Chiapella.

Gestalt und Größe: Kokken und Stäbchen, am Ende mit langer Geißel. Häufig sieht man in einem Individuum ein, zwei und mehr vakuolenähnliche weiße Flecken. Kokken 1,8  $\mu$  Durchmesser, Stäbchen 2,4–3,6  $\mu$  lang und 1,8–2,4  $\mu$  breit, nach Messungen in Anilinblauwasser. Geißel 3–4mal so lang als die Stäbchen.

Eigenbewegung: Sehr lebhaft, besonders bei Proben aus jungen Kulturen schießen die Einzelindividuen, indem sie sich um ihre Längsachse drehen, rasch durch das Gesichtsfeld.

Färbbarkeit: Mit Anilinfarbstoffen (Fuchsin, Gentianaviolett, Methylenblau) leicht, nach Gram nur unvollkommen färbbar.

Sauerstoffbedürfnis: Wächst und leuchtet gut bei Zutritt von freiem Sauerstoff.

Lichtentwicklung: Leuchtet, besonders auf Salznährböden in grünlichem Lichte.

Temperaturbedürfnis: Gedeiht und leuchtet gut bei Zimmertemperatur. Salzbouillon, die auf  $-1\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$  abgekühlt wurde, leuchtet noch, wenn auch mit verminderter Intensität, die frühere Leuchtkraft tritt wieder ein, sobald das Kölbchen sich wieder auf Zimmertemperatur erwärmt hat. In dem auf  $40^{\circ}\text{C}$  temperierten Brutschrank hört Salzbouillon nach 15 $\frac{1}{2}$  Minuten auf zu leuchten. Nach längerem Verweilen der Bouillon im Wärmekasten kehrt das Leuchten nicht mehr zurück, wenn man auf Zimmertemperatur abkühlt. Bei  $37^{\circ}\text{C}$  erlischt das Leuchten nach 33 Minuten, bei  $34^{\circ}\text{C}$  nach 58 Minuten, kehrt aber nach dem Herausnehmen wieder, wenn auch nur in geringem Maße.

Gelatineplatte: 5-tägige Kultur bei Zimmertemperatur.

a) Natürliche Größe: Die aufliegenden Kolonien etwa 0,5 mm Durchmesser, weißlich, rundlich oder unregelmäßig gestaltet.

b) 50-fache Vergrößerung: Aufliegende Kolonien gewöhnlich unregelmäßig, bisweilen rund, gelblichgrau, ziemlich grobkörnig, Rand wellig.

Gelatinestich: Auflage feuchtglänzend, weiß, im Alter schwach gelblich. Im Stich Wachstum gering.

Gelatinestrich: 5-tägige Kultur bei Zimmertemperatur, Strich mäßig ausgebreitet, reinweiß, feuchtglänzend, butterweich, fast ganzrandig, Strich im Alter zuweilen gelblich, brüchig.

Agarplatte: Bei 50-facher Vergrößerung: Kolonien rundlich mit welligem Rande, graulichweiß, von granuliertem Aussehen.

Agarstich: 10-tägige Kultur, mäßig ausgebreitet, weiß, feuchtglänzend, Rand gelappt, im Stich Wachstum.

Agarstich: 5-tägige Kultur, von gleichalten Kulturen des *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch nicht wesentlich verschieden.

Bouillonkultur: Nach 24 Stunden trüb, nach 2–3 Tagen weißer Bodensatz, kein Häutchen.

Salzmilchkultur: Leuchtet nach etwa 4 Tagen schwach, das Leuchten hält ungefähr 14 Tage an.

1) Fischer, A., Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle und das bakterizide Serum. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., R. Koch u. C. Flügge. Bd. XXXV. 1900.)

**Chemische Leistungen:**

- 1) Verflüssigt Gelatine nicht.
- 2) Agarkulturen riechen schwach nach Trimethylamin.
- 3) Entwickelt in einer 1-proz. Traubenzuckergelatine (Schüttelkultur) nach 3 Tagen Gasblasen, bei Zusatz von 2-proz. Traubenzucker zeigen sich nach 3 Tagen Gasblasen und zwar in geringerer Anzahl, bei 3-proz. Zusatz nach 4 Tagen sehr wenig Gasblasen.
- 4) Entwickelt im Gärungskölbchen in 1-proz. Traubenzuckerbouillon nach 2 Tagen Gas, von dem ein Teil Kohlensäure und ein Teil ein brennbares Gas ist.

Kartoffelkultur: Wachstum und Leuchten auf Kartoffeln ohne Salz mit Alkali spärlich.

Sporenbildung: Wurde nie beobachtet.

**Zusammenfassung.**

1) Eine genaue, durch 2½ Jahre fortgesetzte Untersuchung der miteinander oft verwechselten oder für identisch gehaltenen drei Bakterienarten, *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch, *Bacterium phosphorescens* Fischer und *Bacterium Pflügeri* (Ludwig) Reinelt hat ergeben, daß wir es mit drei verschiedenen, wenn auch verwandten Arten zu tun haben. Ein synonyme Gebrauch ihrer Namen ist daher unstatthaft.

2) Die Arbeit bringt eine ausführliche Beschreibung der genannten Bakterien.

3) Das Leuchten des Fleisches toter Schlachtthiere wird in der Regel weder von *Bacterium phosphorescens* Fischer, noch von *Bacterium Pflügeri* (Ludwig) Reinelt bewirkt, sondern in Uebereinstimmung mit den Versuchen Molischs von *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch. Ein Leuchten des Fleisches, hervorgerufen durch zufällige Infektion mit einer Leuchtbakterie des Meeres, erscheint natürlich von vornherein nicht ausgeschlossen.

4) Die von Foà und Chiapella gefundene und beschriebene Leuchtbakterie, die von den genannten Autoren den unsystematischen Namen *Photobacterium italicum* erhalten hat, erwies sich als zur Gattung *Pseudomonas* gehörig und hat den Namen *Pseudomonas italica* (Foà et Chiapella) Reinelt zu führen.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. Hans Molisch sowohl für die Anregung zu dem vorliegenden Thema, als auch für die mannigfachen Anregungen und zahlreichen Ratschläge, mit denen er meine Arbeit förderte, meinen herzlichsten Dank auszudrücken.

Herrn Assistenten Dr. Oswald Richter bin ich für das freundliche Interesse, mit dem er das Werden meiner Arbeit begleitete, ebenfalls zu Danke verpflichtet.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber den Ursprung des Fuselöls und eine Alkohole bildende Bakterienform.

[Aus dem chemischen Laboratorium der Harvard-Universität.]

Von Dr. Hans H. Pringsheim.

Mit 2 Tafeln.

Die bei der alkoholischen Gärung entstehenden Nebenprodukte haben seit langem das Interesse wissenschaftlicher Forschung in Anspruch ge-



nommen. Bei der Destillation trennen sie sich in Vor- und Nachlauf. Letzterer ist besonders eifrig studiert worden; vor allem aber haben die darin gefundenen höheren Alkohole eine sich oft erneuernde Bearbeitung gefunden. Es nimmt daher nicht Wunder, daß die im Nachlauf neben Alkoholen in geringerer Menge aufgefundenen und in wechselnden Verhältnissen vorhandenen anderen Körper weniger Aufmerksamkeit auf sich gelenkt haben, ja kaum in dem Namen Fuselöl mitgenannt sind. Daß wir aber auch sie in den Theorien berücksichtigen müssen, die wir zur Erklärung der Anwesenheit des Fuselöls in Gärprodukten aufstellen, soll unter anderem in dieser Abhandlung gezeigt werden.

Besonders auffallend scheint die Unsicherheit über die Zusammensetzung der Fuselöle, die aus den widersprechenden Angaben zahlreicher Lehrbücher hervorgeht.

K. Windisch<sup>1)</sup> hat die von der ersten bekannten Veröffentlichung Scheeles<sup>2)</sup> im Jahre 1785 bis zum Jahre 1893 gemachten Mitteilungen über die im Fuselöl gefundenen Körper in meisterhafter Weise zusammengestellt, kritisiert und ergänzt. Wir können uns daher für die Zwecke dieser Mitteilung an seine Veröffentlichung halten.

#### Zusammenfassung der Ergebnisse der Untersuchung des Kartoffelfuselöls<sup>3)</sup>.

In 1 kg des von Wasser und Aethylalkohol befreiten Kartoffelfuselöls wurden gefunden:

Normalpropylalkohol	68,54 g	Freie Fettsäuren	0,11 g
Isobutylalkohol	243,5 "	Fettsäureester	0,20 "
Amylalkohol	687,6 "	Furfurol und Basen	0,05 "

In 100 Gewichtsteilen der freien Säuren und der Estersäuren sind ungefähr enthalten:

Namen der Säuren:	Kaprinsäure	Pelargonsäure	Kaprylsäure
Gewichtsteile	36	12	32
Namen der Säuren:	Kaprinsäure	Buttersäure	Essigsäure
Gewichtsteile	14	0,5	3,5

#### Zusammenfassung der Ergebnisse der Untersuchung des Kornfuselöls<sup>4)</sup>.

In 1 kg des von Wasser und Aethylalkohol befreiten Kornfuselöls sind enthalten:

Normalpropylalkohol	36,9 g	Fettsäureester	3,05 g
Isobutylalkohol	157,6 "	Terpen	0,33 "
Amylalkohol	798,5 "	Terpenhydrat	0,48 "
Hexalalkohol	1,33 "	Furfurol, Basen und	
Freie Fettsäuren	1,60 "	Heptylalkohol	0,21 "

In 100 Gewichtsteilen sind enthalten:

als freie Säuren:	Kaprinsäure	Pelargons.	Kapryls.	Kaprins.	Butters.	Essigs.
Gewichtsteile	44,1	12,9	26,7	13,2	0,4	2,7
als Fettsäureester:						
Gewichtsteile	40,7	14,2	34,8	9,6	0,4	0,3

Das neben Kartoffel- und Kornfuselöl noch besonderes Interesse verdienende Oel aus Melasse ist nach der Zusammenstellung von Windisch (l. c.) ähnlich zusammengesetzt. Besonders bemerkt sei hier,

1) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. VIII. 1893. p. 140.

2) Scheele, Crells chemische Ann. Bd. I. 1785. p. 61.

3) l. c. p. 214.

4) l. c. p. 228.

daß Linnemann<sup>1)</sup> aus ihm neben Amyl-, Propyl- und Isobutylalkohol isolierte, während auch hier normaler Butylalkohol nicht gefunden wurde.

Auch Kirsch-<sup>2)</sup> und Zwetschenbranntwein<sup>3)</sup> enthalten nach Windisch dieselben Alkohole.

Seit der Veröffentlichung Windischs aus dem Jahre 1893 sind nur wenige Beobachtungen über die Zusammensetzung des Fuselöls anzuführen.

Bamberger und Einhorn<sup>4)</sup> fand in Kahlbaumschen Amylalkohol, der aus Fuselöl stammte, mehrere kompliziert zusammengesetzte Basen, unter denen sie 2,5 Dimethylpyrazin und 2,5 Dimethylpiperazin identifizierten, während sie in einem Gemenge anderer noch Pyridin nachwiesen.

O. Emmerling<sup>5)</sup> führt an, daß während Amylalkohol immer die Hauptmenge des Fuselöls bildet, neben ihm normaler Butylalkohol nur selten bemerkt worden ist. Er selbst konnte keinen im Kartoffelfuselöl nachweisen. Aus 10 kg Kornfuselöl isolierte er aber 25 g reinen Normalbutylalkohol.

Diese Beobachtung über die Anwesenheit des normalen Butylalkohols im Fuselöl ist die einzige, die auf Genauigkeit Anspruch machen kann.

Wir müssen aber auch bei der Beurteilung dieser Beobachtung erwägen, ob nicht die Anwesenheit des normalen Butylalkohols im Emmerlingschen Kornfuselöl durch Buttersäurebakteriengärung verschuldet gewesen ist. Denn in einem ähnlichen Falle haben Claudin und Morin<sup>6)</sup> nachgewiesen, daß gleichzeitig mit normalem Butylalkohol in einem von Ordonneau<sup>7)</sup> untersuchten alten Cognac 117 g Buttersäure pro Hektoliter vorhanden waren. Aus diesem Befunde und dem widrigen Geschmack des Cognacs schlossen sie — und wohl mit Recht — auf die Mitwirkung des *Bacillus butylicus*. In einem anderen Cognac fanden sie keinen normalen Butylalkohol.

In Osts Lehrbuch der chemischen Technologie, neueste Auflage, 1903 (Hannover, Gebrüder Jänecke) finden sich folgende Angaben:

100 l Cognac enthielten		100 000 g Rohrzucker mit reiner Weinhefe vergoren gaben	
Normalbutylalkohol	218,6 g	Alkohol	50612 g
Amylalkohol	83,8 "	Glycerin	2120 "
Normalpropylalkohol	40,0 "	Bernsteinsäure	452 "
Essigsäureester	35,00 "	Essigsäure	205 "
Acetal	35,00 "	Isobutylenglykol	158 "
Ester homologer Säuren	7,00 "	Amylalkohol	51 "
Acetaldehyd	3,00 "	Normalpropylalkohol	2,0 "
Heptylalkohol	1,5 "	Isobutylalkohol	1,5 "
Hexylalkohol	0,6 "	Ester	2,0 "
Aminbasen	4,0 "		

Für 1) ist charakteristisch das Fehlen des Isobutylalkohols, welcher in so großer Menge im Fuselöl des mit Bierhefe erzeugten Spiritus enthalten ist, dessen Bildung man auf Rechnung der Bierhefe setzen könnte, wenn nicht Versuch 2) auch seine Bildung mit Weinhefe be-

1) Annal. chem. pharm. T. CLX. 1871. p. 231.

2) Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XI. p. 336—389.

3) Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XIV. p. 309—406.

4) Ber. Bd. XXX. 1897. p. 224—229.

5) Ber. Bd. XXXV. 1902. p. 694.

6) Claudin, Ed. und Morin, Ch., Bl. de la Soc. chim. de Paris. T. XLIX. 1888. p. 178.

7) Ordonneau, Bl. de la Soc. chim. de Paris. T. XLV. 1884. p. 333.

wiese. Bemerkenswert ist 1) das Vorwiegen des normalen Butylalkohols und 2) sein Fehlen und das Vorwiegen des Amylalkohols, sowie die Bildung des zwischen Alkohol und Glycerin stehenden nicht flüchtigen Isobutylenglycols  $C_4H_8(OH)_2$ .

Dazu möchte ich bemerken: Die unter 1) angegebenen Zahlen entsprechen genau den von Ordonneau gegebenen. Ich gehe daher wohl nicht fehl, wenn ich annehme, daß sich die Schlußfolgerungen auch auf diese allein stützen, zumal keine ähnliche Angabe über die Zusammensetzung des Cognacs irgendwo zu finden ist.

Die Angaben von Ordonneau (l. c.) sind aber durch die von Claudin und Morin (l. c.) widerlegt. Denn diese trennten den von Ordonneau gefundenen normalen Butylalkohol in demselben Cognac in Isobutyl- und normalen Butylalkohol.

	Claudin und Morin	Ordonneau
Normalbutylalkohol	4,5	—
Isobutylalkohol	49,3	63,8

Der Isobutylalkohol war also auch in dem von Ost angeführten Cognac vorhanden, während die Anwesenheit des normalen Butylalkohols (wie vorher angeführt) mit der der Buttersäure zusammenging und durch Buttersäuregärung erklärt wurde.

Ohne diese Buttersäuregärung herrscht in allen Fuselölen der Amylalkohol vor. Die Schlüsse von Ost, die sich auf Ordonneaus fälschliche Angaben stützen, sind daher nicht stichhaltig und zu korrigieren.

Endlich haben Th. Rudakow und A. Alexander<sup>1)</sup> aus den Gärprodukten von Eicheln ein Fuselöl isoliert, das

2,9 Proz. Normalpropylalkohol,  
9,8 „ Isobutylalkohol,  
80,4 „ Amylalkohol

und Spuren von Hexylalkohol neben Acetaldehyd, Estern und Furfurol enthielt.

### Aeltere Theorien über den Ursprung des Fuselöls.

Die Theorien über den Ursprung des Fuselöls finden bei Windisch keine Berücksichtigung. Und in der Tat finden sich deren in der älteren Literatur nicht viele.

Von historischem Interesse ist, daß Dumas<sup>2)</sup> auf eine angebliche Beobachtung von Fourcroy und Vauquelin hinweist, die aus unvergorener Gerste 1 Proz. Fuselöl ausgezogen haben wollen. Es handelt sich natürlich nicht um das aus der Gerste durch Gärung entstehende Fuselöl, sondern um das Fett der Gerste. Weiterhin gibt Dumas an, daß H. Payen die Substanz kennen lernte, welche zum mindesten in der Kartoffel dieses Öl einschließe. Es seien die Tegumente des Stärkemehls.

Wie nur wenigen heute bekannt sein dürfte, hat auf Grund dieser irrtümlichen Auffassung der Amylalkohol seinen Namen von Amylum, der Stärke, erhalten.

Balard<sup>3)</sup> macht in einer späteren Veröffentlichung auf diesen Irrtum aufmerksam. Er sagt: „Denn da nicht nur der Kartoffel-, sondern auch Wein-, Bier- und Melassealkohol Amylalkohol enthalten, so kann man nicht mehr zweifeln, daß er das Produkt einer die Gärung begleitenden Erscheinung ist. Man könnte annehmen, daß er entweder

1) Journ. russ. phys.-chem. Ges. Bd. XXXVI. 1904. p. 207—219.

2) Dumas, Ann. de phys. et de chim. T. XIII. 1835. p. 80.

3) Balard, Ann. de chim. et de phys. Série. 3. T. XII. 1844. p. 294.

ein Zersetzungsprodukt der komplizierten organischen Körper ist, die gleichzeitig vorhanden sind, oder daß er dem Zucker selbst entstamme.“ Und weiterhin: „Die letzte Meinung, die auch die Dumas' war, scheint mir bedeutend wahrscheinlicher. Aber wie wahrscheinlich dieses auch sein mag, man kann es erst mit Sicherheit annehmen, nachdem die größere Menge des Zuckers, die sich sonst in Aethylalkohol verwandelt hätte, in Amylalkohol übergeführt worden ist.“

Unter den vielen Veröffentlichungen über die Zusammensetzung des Fuselöls aus der Mitte des vorigen Jahrhunderts finden sich keine Bemerkungen über seinen vermutlichen Ursprung.

Im Handwörterbuch der reinen und angewandten Chemie<sup>1)</sup> aus dem Jahre 1848 wird die Anwesenheit des Fuselöls im Alkohol aus Kartoffeln durch einen Desoxydationsprozeß der wechselnden Einwirkung des Stärkemehls und der stickstoffhaltigen Bestandteile der Kartoffel erklärt. Denn man wisse, daß reine Kartoffelstärke durch Schwefelsäure in Zucker verwandelt und mit Hefe in Gärung versetzt, völlig fusel-freien Alkohol liefere.

Im neuen Handwörterbuch der Chemie von Fehling<sup>2)</sup> steht unter Fuselöl: Ueber die Bedingungen, welche der Bildung solcher Fuselöle günstig oder ungünstig sind, über die Bestandteile der Rohmaterialien, aus welchen dieselben sich bilden, ob aus Zucker oder Stärkemehl selbst, ob und in welcher Weise die Hefe dabei beteiligt ist, und mehreres andere der Art, wissen wir nichts.

Und noch Victor Meyer und Jacobson schrieben im Jahre 1893 in ihrem Lehrbuch der organischen Chemie: Die Bedingungen der Entstehung der Fuselöle sind noch nicht klargelegt.

### Beobachtungen über die Verhältnisse der Fuselölbildung.

Auch über besondere Bedingungen der alkoholischen Gärung, die die Bildung des Fuselöls beeinflussen sollen, finden sich nur wenige Angaben.

Schwartz<sup>3)</sup> macht darauf aufmerksam, daß Fuselöl im allgemeinen bei stürmisch verlaufender Gärung in besonders großem Maße auftritt, während Lebel<sup>4)</sup> beobachtete, daß Bier, welches in einem sehr kühlen Keller hergestellt wurde, nur sehr wenig höhere Alkohole enthielt.

Im Zusammenhange mit diesen Angaben muß man die verlässlicheren Lindets<sup>5)</sup> berücksichtigen, der den Einfluß höherer Temperaturen, die naturgemäß den Verlauf der Gärung beschleunigen, untersuchte.

Etwa 30 l gaben mit derselben Hefe und Würze

Temperatur der Gärung	unreiner Alkohol ccm	höhere Alkohole	
		ccm	auf 100 ccm Alkohol
32—35°	675	3,9	0,58
25—27°	1607	9,6	0,59
19—21°	1834	9,9	0,54
8—10°	1877	9,7	0,52

1) Liebig, Poggendorf und Wöhler, Handwörterbuch der reinen und angewandten Chemie. Herausgegeben von Kolbe. Bd. III. 1848. p. 211.

2) Fehling, Neues Handwörterbuch. Bd. III. 1878. p. 307.

3) Schwartz, Dinglers polytechnisches Journal. Bd. CLXXII. p. 239.

4) Lebel, Bull. de la Soc. chim. de Paris. T. II. 1882. p. 98.

5) Lindet, Comptes rendus. T. CVII. 1888. p. 182.

Aus der hier angeführten Tabelle geht jedoch hervor, daß die Angaben Lindets weniger dazu geeignet sind, zur Entscheidung der Frage über den Ursprung des Fuselöls herangezogen zu werden, als das in der neueren Literatur geschieht. Denn die Beobachtungen Lindets lassen nur einen sehr unbedeutenden Einfluß der Temperatur erkennen, einen Einfluß, der sicher nicht über den Beobachtungsfehler seiner Experimente hinausgeht.

Vor kurzem hat A. Bau<sup>1)</sup> eine Theorie aufgestellt, der zufolge sich die höheren Alkohole durch Reduktion aus den Fettsäuren bilden. Ganz abgesehen davon, daß sich die Bildung des Amylalkohols, der doch aus Valeriansäure entstehen müßte, auf diese Weise kaum erklären läßt, ist auch kein richtiges Verhältnis zwischen den Mengen der gebildeten Alkohole und der vorhandenen Säuren aufzufinden.

### Fuselölbildung und Hefereinkultur.

Seitdem wir durch die Methode der Reinkultur in Stand gesetzt sind, Gärung durch eine Organismenart hervorzurufen, wurde die Frage brennend, ob etwa Verunreinigung der Hefe durch andere Organismen die Anwesenheit des Fuselöls veranlasse. Wunderbarerweise schien die Versuchung sehr groß, die Zuckerzersetzung durch das Hefeezym in einfache chemische Formeln zu pressen und die Anwesenheit der Nebenprodukte anderen Organismen, und zwar Bakterien zuzuschreiben. Man kann jedoch nicht umhin, in diesem Bestreben die Nichtberücksichtigung all der neben Alkoholen gebildeten Produkte zu bemerken. Denn wenn die höheren Alkohole durch Bakterienmitwirkung gebildet würden, wenn die Zuckerzersetzung unter dem Einfluß der Hefe einer so einfachen Reaktion entspräche, dann müßte auch für die Bildung von Glycerin, Bernsteinsäure und all die im Fuselöl aufgefundenen Säuren, Basen und Ester eine Bakterienzersetzung verantwortlich sein.

Die Angabe, daß Bakterien für die Bildung der höheren Alkohole verantwortlich zu machen sind, finden sich in vielen neueren Büchern<sup>2)</sup>.

Die einzige<sup>3)</sup> Arbeit, welche sich die Prüfung der durch authentische Hefereinkultur erzeugten Produkte auf höhere Alkohole zur Aufgabe

1) Bau, A., Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Bd. XXVII. p. 317—318.

2) Vergleiche Bernthsen, A., Kurzes Lehrbuch der organischen Chemie. 6. Aufl. 1896. p. 89. Fuselöl, dessen Entstehung auf die Anwesenheit fremder Organismen zurückzuführen ist. — In Max Maerckers Handbuch der Spiritusfabrikation (herausgegeben von Delbrück) Berlin 1903. p. 77—78. wird auf Lindets Versuche hingewiesen. Weiterhin wird gesagt: „Daß eine Bakterienart, die Perdrix in Pasteurs Institut isolierte, Fuselöl erzeugt, steht über allem Zweifel.“ Und: „Außerdem können gewisse Bakterien Fuselöl bilden. Das Fuselöl kann sowohl als Erzeugnis der Hefe, wie auch der Bakterien entstehen.“ — Dammer, Handbuch der chemischen Technologie. Bd. III. 1896. p. 523. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind die höheren Alkohole die Produkte besonderer Organismen, die erst voll zur Geltung kommen, sobald die Hefe an der Bildung von Aethylalkohol gehindert ist. Ein Mittel, die Entwicklung jener Lebewesen bzw. des *Bacillus amylocymicus* (? Perdrix, vergleiche später H. H. P.) zu beschränken, liegt deshalb sehr nahe. Man braucht nur von Anfang an möglichst kräftige und verhältnismäßig reine Hefe in Anwendung zu bringen. — Duclaux, Traité de Microbiologie. T. III. p. 437. Man kann unmöglich zugeben, daß die Bildung der höheren Alkohole allein auf die normale Zuckerzersetzung zurückzuführen ist etc. — Ed. v. Lippmann, Obgleich aber die Spaltpilze eine wichtige Rolle zu spielen scheinen, so geht es nichts an diese zu verallgemeinern.

3) Die Angabe Lippmanns (l. c. p. 384), daß Ordonneau (Comptes rendus. T. CII. p. 217) bei der Vergärung von Traubenzucker mit einer Reinkultur des *Saccharomyces ellipsoideus* gearbeitet habe, beruht auf einem Irrtum. Aus der Originalarbeit geht nicht hervor, daß Ordonneau eine Reinkultur im modernen Sinne verwendet hätte. Wir müssen diese Angaben daher hier unberücksichtigt lassen.

machte, ist die von Rayman und Kruis<sup>1)</sup>. Sie fanden bei 8 Gärungen Fuselölbildung, während sie bei 5 anderen keine höheren Alkohole abscheiden konnten. Trotz der Kritik von Gentil<sup>2)</sup> läßt sich diese Arbeit sehr wohl zum Beweise anführen, daß Fuselöle durch alleinige Wirkung von Hefereinkultur gebildet werden können. Denn die Tatsache, daß Fuselöle in gewissen Fällen der Hefegärung nicht auftritt, berechtigt nicht zu dem Rückschluß, daß es, wenn vorhanden, nicht durch Hefezersetzung entstanden ist. Das gilt auch von der Beobachtung von Schwartz, daß ein Kirschbranntwein der Vogesen keine höheren Alkohole enthält.

Wichtig ist, daß auch bei der Vergärung von mit *Amylomyces* verzuckerten Maischen Fuselöl auftritt<sup>3)</sup>. Wir haben hier einen Fall, für den uns die technische Prüfung einer von Fremdorganismen freien Gärung zugänglich ist. Bekanntlich wird mit *Amylomyces* in sterilen Maischen und unter Verwendung von zwei Pilzen in absoluter Reinkultur und Einrichtungen der Bottiche, welche ein Reinbleiben der Gärung verbürgen, gearbeitet.

Aber auch diese Angaben sollen hier nicht zum besonderen Beweise angeführt werden, daß die uns bekannten Bakterien nicht für die Fuselölbildung verantwortlich gemacht werden können. Zu diesem Zwecke gehen wir auf die Arbeiten, die diese Theorie unterstützen, selbst ein.

Aus einer zweiten Arbeit über die Bedingungen der Fuselölbildung schließt Lindet<sup>4)</sup> auf die Mitwirkung von Bakterien. Er fand, daß die Bildung höherer Alkohole nicht im Verhältnis zur Äthylalkoholbildung stattfindet, wie das durch die folgende Tabelle veranschaulicht wird.

	Alkohol gebildet in 100 l Würze  Liter	Höhere Alkohole	
		gebildet in 100 l Würze  ccm	auf 100 l des gebildeten Alkohols  ccm
Von 0—14 Stunden	1,84	6,62	0,36
„ 14—20 „	1,60	8,69	0,54
„ 20—38 „	2,83	25,13	0,88
24 Stunden nach Beendigung der Gärung	0,28	39,82	14,07

Aus dieser Beobachtung folgert Lindet, daß die Zuckerzersetzung nicht in allen Stadien der Gärung durch eine Formel zu veranschaulichen sei, die der Bildung höherer Alkohole Rechnung trage. Und daher schließt er auf die Bildung dieser nicht durch die Hefegärung selbst, sondern durch andere Organismen. Isoliert hat er diese allerdings nicht. Die Schlußfolgerung Lindets ist gar nicht stichhaltig. Die Gärung ist für uns eine bei weitem zu komplizierte Reaktion, als daß wir aus der Nichtbefolgung gewisser einfacher Verhältnisse so weit geholte Schlüsse ziehen könnten. Das Gleiche läßt sich von seinen weiteren Schlüssen sagen. Er folgert, daß kräftige Gärung die Bakterienwirkung unterdrücken müsse, und daß daher bei größerer Hefezugabe weniger „höhere Alkohole“ gebildet werden sollten. Das Experiment bestätigte die Voraussetzung. Auf 1 l reinen Alkohol erhielt er

1) Rayman und Kruis, Chemisch-biologische Studien. Prag (Verlag der Versuchsanstalt für Spiritusindustrie) 1891.

2) Gentil, Monit. scientif. T. XI. (2.) 1896. p. 568. Bei Hanow (Chem.-Ztg. 1898. p. 747) konnte ich keine auf diesen Punkt bezügliche Angabe auffinden.

3) Märker, Handbuch der Spiritusindustrie. 8. Auflage. p. 529. „Der Spiritus ist zwar nicht fuselfrei etc.“

4) Lindet, Comptes rendus. T. CVII. p. 182.

Kristallzucker	Maltose
wenig Hefe 1,47 ccm	3,96 ccm
viel " 2,30 "	5,29 "

sich bei der Destillation abscheidende höhere Alkohole.

Zur Erklärung der Lindetschen Beobachtungen verweise ich auf meine später entwickelte Theorie der Fuselölbildung, die ihnen in angemessener Weise Rechnung trägt.

### **Zusammensetzung der durch bekannte Bakterien gebildeten Gemische höherer Alkohole.**

Weit wichtiger als die Kritik der Lindetschen Arbeiten ist die der uns bekannten, aus Zucker höhere Alkohole bildenden Bakterien. Hier drängt sich naturgemäß sofort die Frage auf, ob die Bildner höherer Alkohole aus Zucker Gemenge dieser Produkte liefern, die der Zusammensetzung des Fuselöls entsprechen.

Beim Vergleich der uns bekannten Tatsachen finden wir jedoch, daß das keineswegs der Fall ist, ja daß Amylalkohol in mehr als Spuren noch nicht mit Sicherheit als Produkt der Bakteriengärung nachgewiesen wurde.

Aus den Angaben von Windisch (l. c.) entnehme ich, daß Amylalkohol in allen Fällen als der Hauptanteil der Fuselöle nachgewiesen wurde. Neben ihm findet sich Isobutylalkohol, Propylalkohol und in seltenen Fällen Alkohole mit mehr Kohlenstoffatomen als Amylalkohol. Die Angaben über das Vorhandensein des normalen Butylalkohols wurden vorher kritisiert.

Alle<sup>1)</sup> die bekannten Bildner höherer Alkohole unter den Bakterien bilden als Hauptprodukt unter den Alkoholen Neutralbutylalkohol. Die Angaben von Perdrix über die Bildung von Amylalkohol neben Aethylalkohol durch den von ihm aus Pariser Leitungswasser isolierten *Bacillus amylocyme*, die sich wieder und immer wieder in der Literatur finden, sind aller Wahrscheinlichkeit nach falsch. Denn abgesehen davon, daß die Bildung zweier sich so fernstehender Alkohole, wie Aethyl- und Amylalkohol, ohne das gleichzeitige Erscheinen der dazwischenliegenden Glieder durch Mikroorganismen nie beobachtet worden ist, hat Perdrix die Alkohole nicht durch Fraktionierung getrennt, ja er macht keinerlei Angaben über ihren Siedepunkt. Seine Beobachtung beschränkt sich auf die Bestimmung des quantitativen Verhältnisses der angeblich vorhandenen Alkohole nach der Methode von Duclaux<sup>2)</sup> ohne deren qualitativen Nachweis.

Duclaux hat auf empirischem Wege Tabellen zusammengestellt, nach denen man die Zusammensetzung von Alkoholgemischen ermitteln kann, wenn man die Anzahl der Tropfen bestimmt, die beim Ausfluß einer 5 Proz. Alkohol enthaltenden wässerigen Lösung bei 15° aus einer Pipette gebildet werden, aus der 5 ccm Wasser genau 100 Tropfen geben.

Perdrix hat die bei der Destillation der durch seinen *Bacillus* vergorenen stärkehaltigen Materialien mit einem Lebelschen Aufsatz sich auf dem Wasser abscheidenden Produkte nach dieser Methode untersucht. Nachdem er die abgehobenen Alkohole auf 5 Volumenproz. ver-

1) Pasteur, Comptes rendus. T. LII. p. 344. — Fitz, A., Bericht d. deutschen chem. Gesellschaft. Bd. XV. 1882. p. 867. — Gruber, M. M., Centralbl. f. Bakt. Bd. I. 1887. p. 370. — Perdrix, Annales de l'Institut Pasteur. T. V. 1891. p. 307. — Grimbert, Annales de l'Institut Pasteur. T. VII. 1893. p. 371. — Beijerinck, M. W., Archives Néerlandaises. T. XXIX. 1895. p. 1. — Winogradski, S., Centralblatt für Bakt. Bd. IX. 1902. p. 53. — Emmerling, O., Berichte der deutschen chem. Gesellschaft. Bd. XXXVII. 1904. p. 3535; Bd. XXXVIII. 1905. p. 954.

2) Duclaux, Annales de Chimie et de Physique. Série 5. T. VII. p. 273.

dünnt hatte, fand er beim Ausfluß aus der Pipette 210—218 Tropfen. Aus der von Duclaux für ein Gemisch von Aethyl- und Amylalkohol aufgestellten Tabelle liest er daher ein Verhältnis von 25—28 Proz. Amylalkohol zu 72—75 Proz. gewöhnlichen Alkohol ab.

Für die Anwesenheit von Amylalkohol ist diese Art der Beweisführung keineswegs überzeugend. Denn ein Gemisch verschiedener Alkohole, das verhältnismäßig mehr höhere Alkohole, z. B. normalen Butylalkohol und keinen Amylalkohol enthielt, hätte ihm genau dieselbe Tropfenanzahl geben können. Es ist im Gegenteil mit Sicherheit anzunehmen, daß Amylalkohol nur in Spuren vorhanden war, und daß Perdrix sich durch den Geruch verleiten ließ, auf die Anwesenheit von Amylalkohol zu schließen. Dies ist um so wahrscheinlicher, als schon Spuren von Amylalkohol den charakteristischen Geruch und das bekannte Kratzen im Halse veranlassen, wie ich mich durch den Versuch überzeugt habe. In dieser Auffassung werde ich noch mehr durch die Tatsache bestärkt, daß auch der von L. Grimbert isolierte *Bacillus orthobutyricus* nach dessen Angaben (l. c. p. 361) ein Alkoholgemenge von starkem Amylalkoholgeruch produzierte, das sich nach dem Fraktionieren in wenig Iso- und viel normalen Butylalkohol trennte. Auch Emmerling hat sich (l. c.) in seiner ersten Veröffentlichung über die von ihm durch Kartoffelbakterien erhaltenen Gemische höherer Alkohole wohl durch den Geruch zu einer den Perdrixschen ähnlichen Angabe über das Vorhandensein des Amylalkohols verleiten lassen und sie dann in seiner zweiten Veröffentlichung (l. c.) korrigiert. Auch er fand nur Spuren von Amylalkohol neben Propyl- und Butylalkohol.

Ich mache diese Angaben, um die Wahrscheinlichkeit meiner Vermutung, daß auch der Perdrixsche *Bacillus* keinen Amylalkohol in faßbarer Menge gab, zu kräftigen; denn durch die Nachprüfung läßt sie sich jetzt ja leider nicht mehr festlegen<sup>1)</sup>.

Auch die Herausnahme eines Patentes von Péreine<sup>2)</sup> und Guignard<sup>3)</sup> zur Produktion eines fuselreichen Brennschneidens durch aufeinanderfolgende Bakterien- und Hefegärung beweist gar nicht, daß ihr sogenannter Fusel Amylalkohol enthielt. Die Tatsache, daß sie einen dem Pasteurschen Buttersäurebacillus resp. dem van Tieghemschen *Amylobacter* ähnlichen *Bacillus* verwenden wollen, läßt im Gegenteil mit Sicherheit die Bildung von normalem Butylalkohol und nicht von Amylalkohol schließen.

Aus der Kritik dieser beiden Angaben, die die einzigen sind, welche in ihren Bakteriengärprodukten Amylalkohol vermuten, geht hervor, daß wir noch keinen *Bacillus* kennen, der ein dem Fuselöl ähnliches Alkoholgemisch erzeugt.

## Zweiter Teil.

### Zur Systematik der Buttersäurebakterien.

In neuerer Zeit haben sich Grassberger und Schattenfroh<sup>4)</sup> große Verdienste um die Systematik der Buttersäurebakterien errungen. Der Botkinsche<sup>5)</sup> Buttersäurebildner, der sich in Milch finden sollte, wurde durch sie seiner Identität beraubt. Sie stellten weiterhin eine ver-

1) Im Institut Pasteur ist der *Bacillus* nicht zu haben!

2) Nicht Perdrix und Guignard, wie in Lippmanns Chemie d. Zuckerarten (l. c. Bd. I. p. 384) angegeben.

3) D. R.-P. 139387 vom 23. November 1901.

4) Archiv für Hygiene. Bd. XXXVII. 1900. p. 55 und Bd. XLIII. 1902. p. 219.

5) Zeitschrift für Hygiene. Bd. XI. 1892. p. 421.



gleichende Untersuchung der anaëroben Buttersäurebakterien an, die von Beijerinck in die Klasse *Granulobacter* zusammengefaßt worden sind. Zu dieser mit Jod die Granulosereaktion gebenden Klasse gehören Arten, die bei der Sporenbildung clostridienartig anschwellen und unter Entwicklung von Wasserstoff und Kohlensäure Gärung hervorrufen<sup>1)</sup>.

Die Uebereinstimmung der von verschiedenen Autoren beschriebenen Buttersäurebakterien steht nur für einige Arten fest. Die Pasteur van Tieghemschen Arten sind ebenso wie die von Prazmowski später wiederbeschrieben worden. Da Beijerinck den Fitzschen *Bacillus* in den Händen hatte und mit seinem *Saccharobutyricus* übereinstimmend fand, so verliert er auch seine Identität. Die Uebereinstimmung des *Amylobacter* I von Gruber mit dem Beijerinck-schen *Granulobacter butylicum* ist bloße Vermutung.

Grassberger und Schattenfroh haben bewiesen, daß gewisse morphologische und biologische Eigenschaften dieser Bakterien sehr wandelbar sind. Aus ihren Untersuchungen<sup>2)</sup> schließen sie, daß die von Gruber, von Klecki und Beijerinck isolierten Bakterien sich in zwei Arten sondern lassen, die sie *Granulobacter mobilis non liquefaciens* und *Granulobacter immobilis liquefaciens* nennen. Sie sagen: „Die eine Art der Buttersäurebakterien besitzt Eigenbewegung und verflüssigt die Gelatine nicht. Diese Art ist es, deren Varietäten bisher von zahlreichen Forschern beschrieben worden sind. Zu ihr gehört sicher der Buttersäurebacillus I von Gruber, der *Bacillus saccharobutyricus* von Kleckis, der *Granulobacter saccharobutyricum* von Beijerinck und wahrscheinlich auch der *B. Amylozyme* von Perdrix, und der *B. orthobutyricus* von Grimbert. Ob der Buttersäurebacillus II von Gruber und der *B. butylicus* von Fitz gleichfalls dieser Art angehören und nur eine hoch differenzierte Varietät derselben sind, wollen wir bis jetzt noch nicht entscheiden, halten es aber für wahrscheinlich.“

Grassberger und Schattenfroh hatten nur die Urstämme der drei zuerst genannten Arten, Buttersäurebacillus I von Gruber, *B. saccharobutyricus* Klecki, und *Granulobacter saccharobutyricum* Beijerinck in den Händen. Diese drei Arten sind also definitiv in eine aufgelöst. Da Beijerinck (l. c. p. 7) den Fitzschen *Bacillus* in den Händen hatte und mit seinem *Saccharobutyricus* übereinstimmend fand, so verliert auch er seine Identität. Die Uebereinstimmung des *Amylobacter* I von Gruber mit dem Beijerinck-schen *Granulobacter butylicum* ist zwar nur Vermutung, kann aber schwer widerlegt werden.

Daß weiterhin nach Grassberger und Schattenfroh auch der *B. Grimbert* und Perdrix mit dem *Granulobacter mob. non liquifaciens* identisch ist, ist noch weniger bewiesen. Denn Grassberger und Schattenfroh heben besonders hervor, daß die Bildung

1) Pasteur, *Comptes rendus*. T. XLV. 1857. 913. — Van Tieghem, *Comptes rendus*. T. XXVI. 1879. p. 25. — Cohn, Untersuchungen über Bakterien. (Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. II. 1872. Heft I. p. 172. — Prazmowski, Entwicklung und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Leipzig 1880. — Fitz, A., *Ber. der deutsch. chem. Gesellsch.* Bd. XV. 1882. p. 867. — Hueppe, *Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt*. Bd. II. 1884. p. 309. — Gruber, M. M., *Centralblatt für Bakt.* Bd. I. 1887. p. 370. — Perdrix, *Annales de l'institut Pasteur*. T. V. 1891. p. 307. — Grimbert, *Annales de l'institut Pasteur*. T. VII. 1893. p. 371. — Beijerinck, M. W., *Archives Néerlandaises*. T. XXIX. 1895. p. 1. — Kedrowski, *Zeitschr. f. Hygiene*. Bd. XVI. 1895. p. 445. — von Klecki, V., *Centralblatt für Bakteriologie*. Abt. II. Bd. II. 1896. p. 178.

2) *Centralblatt für Bakteriologie*. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 698.

des Butylalkohols bei keiner ihrer Arten konstant ist. Sie sagen <sup>1)</sup>: „Alkohole, die von manchen Autoren als konstantes Gärprodukt des beweglichen Buttersäurebacillus gefunden wurden — es handelt sich vermutlich um Butylalkohol — fanden wir nur ein einziges Mal in größerer Menge bei der Analyse der Gärprodukte eines frisch aus Erde gezüchteten Stammes vor. Wir waren jedoch nicht im stande, bei mehrfacher Wiederholung der Versuche ein gleiches Resultat zu erzielen.“

„Der gleiche Stamm bildete bei zwei weiteren Versuchen keine Alkohole“ (p. 263).

Für die von Perdrix und Grimbert aufgefundenen Bakterien, die den Autoren höhere Alkohole gaben, läßt sich heute keine Nachforschung anstellen. Aber die von mir auf amerikanischer Kartoffel gefundene Art, die, wie aus dem Folgenden hervorgeht, in vieler Beziehung mit dem *B. mob. non liquefaciens* übereinstimmt, hat mir so konstant und in vielen Generationen höhere Alkohole gegeben, daß ich mich in Bezug auf sie doch der Meinung einer charakteristischen Verschiedenheit vom Grassberger und Schattenfrohschen Bacillus zuneigen muß.

Ich bin der Meinung, daß auch unter den Kohlenhydrate vergärenden Buttersäurebakterien zwischen solchen, die Butylalkohol bilden und solchen, die diese Eigenschaft nicht konstant zeigen, eine Unterscheidung gemacht werden muß, und ich neige mich der Auffassung zu, das Butylalkohol gebende Arten häufig auf Kartoffeln, Getreide etc. zu finden sind, daß sie aus dem Boden stammen, woraus sie auch Beijerinck isoliert, während Butylalkohol nicht bildende Arten dieser bestimmten Klasse des *mobilis non liquefaciens* häufiger in Milch und Käse zu finden sein werden.

Meine Untersuchung stellt mindestens die Bildung von Butylalkohol neben Isopropylalkohol aus verschiedenen Kohlenhydraten und in einer Menge von Fällen fest.

Ob meine Art mit der Perdrixschen übereinstimmt, kann ich bei der Unsicherheit unserer Kenntnis der vom Perdrixschen Bacillen gebildeten Alkohole nicht entscheiden. Vom Grimbertschen ist sie durch die Bildung anderer Alkohole unterschieden; denn dieser bildet neben normalem Butylalkohol Isobutylalkohol.

Einen Vergleich mit dem Grassberger und Schattenfrohschen *mobilis non liquefaciens* wird die folgende Tabelle erleichtern.

(Siehe Tabelle p. 311.)

Der Tabelle lassen sich einige andere Beobachtungen hinzufügen, die mit den Grassberger und Schattenfrohschen nicht verglichen werden können, da die Autoren über sie keine Angaben machen.

Der von mir isolierte Bacillus ruft mit Pepton, Asparagin, schwefelsaurem Ammon, als Stickstoffnahrung bei Gegenwart von Nährsalzen kräftige Glukosegärung hervor. Er begnügt sich auch mit salpetersaurem Natrium, vergärt dann aber nur schwach.

Sein Nährboden par excellence ist die Kartoffel, auf der er in gekochtem und ungekochtem Zustande, ohne Zusatz anderer Nährstoffe, kräftige Gärung hervorruft. Vermalzte Kartoffel vergärt er mit gleicher Stärke, während die Gärung verdünnter Melasse weniger kräftig ist. Die Ausbeute an gebildeten Alkoholen, die bei diesen drei neben Glukose untersuchten Nährböden dieselbe qualitative Zusammensetzung haben, hängt offenbar mehr von der Stärke der Gärung, als vom Nährboden ab.

Besonders hervorzuheben ist, daß Gärung in offenen Gefäßen durch

1) l. c. p. 220.

**Bacillus Grassberger und Schattenfroh.**

Clostridienform bei der Sporenbildung.  
Bewegliche peritriche Geißeln.  
Mäßige Resistenz der Sporen gegen Hitze.  
Gelatine nicht verflüssigend.  
Granulosereaktion mit Jod.

**Gärprodukte.**

Buttersäure.  
Im buttersauren Barium Ba = 46,8 Proz.  
(Ameisensäure, Essigsäure?)  
Milchsäure.  
Wasserstoff und Kohlensäure.  
Keine höheren Alkohole.

**Vergärt**

Stärke, Dextrose, Saccharose, Glycerin.

nicht milchsauren Kalk.

Das Kasein der Milch wird gefällt, aber nicht peptonisiert.

**Bacillus Pringsheim.**

Clostridienform bei der Sporenbildung.  
Bewegliche peritriche Geißeln.  
Mäßige Resistenz der Sporen gegen Hitze.  
Gelatine nicht verflüssigend<sup>1)</sup>.  
Granulosereaktion mit Jod.

**Gärprodukte.**

Buttersäure.  
Im buttersauren Barium Ba = 45,03 Proz.  
(Ameisensäure, Essigsäure?)  
Milchsäure.  
Wasserstoff und Kohlensäure.  
n-Butylalkohol.  
Isopropylalkohol.

**Vergärt**

Stärke, Maltose, Saccharose, Laktose, Dextrose, Lävulose, Galaktose, Mannit, Glycerin.

nicht milchsauren Kalk.

Das Kasein der Milch wird gefällt, aber nicht peptonisiert.

eine kräftige Kultur immer hervorgerufen werden kann und daß aus diesem Grunde der Bacillus nicht zu den obligaten Anaëroben gerechnet werden darf. Bedient man sich zur Fortzüchtung der Kultur der mit dem Korkbohrer ausgestochenen Kartoffel im Reagenzglas, so muß man sie mit so viel Wasser bedecken, daß sie auch nach dem Sterilisieren noch völlig mit Wasser überschichtet ist. In diesem Falle läßt sich Gärung immer einleiten, nicht jedoch, wenn die Kartoffel unbedeckt ist.

Die Dauer der Gärung ist wechselnd. Auf Kartoffel wurde noch nach 3 Wochen eine Gasabgabe beobachtet, während sie nie über 4 Wochen hinausging.

Der Zusatz von Kalk zum Nährboden und die konsequente Abstumpfung der sich bildenden Säuren verringert die Menge der gebildeten Alkohole, hindert sie aber nicht völlig, wie für den Perdrixschen Bacillus angegeben. Durch völligen Ausschluß des Sauerstoffs ließ sich die Gärungsdauer nicht verlängern. Die Hauptmenge der Alkohole wird in allen Fällen während der ersten und kräftigsten Gärperiode vom 2. bis etwa zum 7. Tage gebildet. Die Temperaturgrenze wurde nur annähernd bestimmt. Bei 18° ist die Gärung schwach, sie wird aber durch eine Temperatur von 45° noch nicht gehemmt. Das Optimum liegt etwa bei 35°.

Das Verhältnis vom Wasserstoff zur Kohlensäure steht unter dem Einfluß noch unbekannter Tatsachen. Durchschnittlich wurde gleiches Volumen beider Gase gefunden.

**Buttersäure im Fuselöl und die Buttersäurebakterien.**

Die für die Fuselölbildung verantwortlich gemachten Bakterien, wie z. B. der Bac. Perdrix, bilden gleichzeitig mit höheren Alkoholen Buttersäure. Mit Ausnahme des Beijerinckschen Granulobacter butylicum tun das alle Bildner höherer Alkohole<sup>2)</sup>. Diese Säure

1) Meine frühere Angabe betreffs der Gelatineverflüssigung muß korrigiert werden.

2) Daß Gleiche läßt sich auch von den nicht zu den eigentlichen Buttersäurebakterien gehörigen Bac. subtilis und termo sagen, die nach Fitz (Ber. Bd. XI. p. 53) und Brown (Bulletin de l'association belge des chimistes) ebenfalls Buttersäure

findet sich nur in geringen Mengen im Fuselöl. Aus den Angaben von K. Windisch (l. c. p. 215) entnehme ich, daß in einem Kilogramm Kartoffelfuselöl 0,09 g freie Fettsäuren und 0,17 g Fettsäureester gefunden wurden. In 100 Gewichtsteilen der freien Säuren und der Fettsäureester sind ungefähr 0,5 Gewichtsteile Buttersäure vorhanden. Auf 1 kg Fuselöl kommen daher 0,0013 g Buttersäure. 1 kg Kornfuselöl enthielt nach Windisch (l. c. p. 228) 1,87 g freie Fettsäuren und 2,62 g Fettsäureester. In 100 Gewichtsteilen der freien Säuren fand sich 0,4 in 100 Gewichtsteilen der Ester 0,4 Gewichtsteile Buttersäure. In einem Kilogramm Fuselöl sind daher nur etwa 0,016 g Buttersäure enthalten.

Das Verhältnis dieser geringen Mengen Buttersäure zu der gleichzeitig gebildeten Menge höherer Alkohole einerseits und das Verhältnis dieser Produkte der Bakterienzersetzung andererseits läßt sich ebenfalls als Beweis gegen die Annahme anführen, daß uns bekannte Bakterien Fuselöle bilden.

Der Fitzsche<sup>1)</sup> *Bacillus butylicus* invertiert Rohrzucker und bildet auf 100 Teile Invertzucker 42,5 Teile Buttersäure, 0,5 Teile Butylalkohol 0,3 g Milchsäure.

Ein diesem sehr ähnlicher fakultativ anärober *Bacillus*<sup>2)</sup> bildet als Hauptprodukt Buttersäure, daneben Essigsäure, etwas Ameisensäure, Bernsteinsäure, Mannit und etwas Alkohol.

Der Perdrixsche *Bacillus amylozyme* bildet aus Kartoffeln (l. c. p. 307) auf 0,429 g des angeblichen Gemisches von Aethyl- und Amylalkohol 0,178 g Buttersäure.

Grimbert hat für den von ihm aus Getreide isolierten *Bacillus orthobutyricus* nachgewiesen, daß das Verhältnis der gebildeten Produkte sehr von der Dauer der Gärung und dem Alter der zur Aussaat benützten Kultur abhängig ist. Daß er sich trotzdem bemüht, die verschiedenen Verhältnisse der Zuckerzersetzung in chemische Gleichungen zu pressen, nimmt mich wunder<sup>3)</sup>. Aber in allen Fällen bildete sein *Bacillus* weit größere Mengen Buttersäure im Vergleich zu höheren Alkoholen, als das der Zusammensetzung des Fuselöls entspricht. Nach 20 Tagen wurden z. B. aus 1 g Traubenzucker 0,316 g Butylalkohol und 0,02 g Buttersäure gebildet<sup>4)</sup>, und auf 100 ccm vergorenen stärkehaltigen Materials<sup>5)</sup> kamen nach 15 Tagen 0,280 ccm Butylalkohol und 0,0888 ccm Buttersäure.

Auch die neuerdings von Emmerling (l. c.) isolierten Kartoffelbakterien bilden, soweit seine Untersuchungen bekannt sind, neben einem Alkoholgemisch, das Amylalkohol nur in Spuren enthält, Buttersäure. Dieses tut auch der von mir<sup>6)</sup> aus amerikanischer Kartoffel isolierte *Bacillus*.

Die Beweisführung gegen die Bildung der Fuselöle durch den Beijerinckschen *Granulobacter butylicum* würde etwas erschwert werden, falls dieser ein dem Fuselöl entsprechendes Alkoholgemisch

neben höheren Alkoholen bilden. E. Buchner (Hoppe-Seylers Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. IX. p. 938) zeigte übrigens, daß die auf *Bac. subtilis* bezüglichen Angaben irrtümlich sind, da dieser Pilz in Reinkultur kein Gärungs-erregere ist.

1) Fitz, Ber. Bd. XV. p. 867.

2) Fitz, Ber. Bd. XVI. p. 844.

3) Vergl. auch Beijerinck (l. c. p. 49).

4) l. c. p. 371.

5) l. c. p. 388.

6) Pringsheim, Hans H., Zur Fuselölfrage. (Ber. Bd. XXXVIII. 1905. p. 486.)

bildete. Dies ist jedoch nicht der Fall. Beijerinck<sup>1)</sup> konnte neben normalem Butylalkohol nur geringe Mengen eines niedriger siedenden Alkohols auffinden, in dem er Propylalkohol vermutete. Amylalkohol fand er nicht.

Die Entwicklung des *Granulobacter butylicum* in einer alkoholischen Gärung wird an sich durch andere Tatsachen unwahrscheinlich gemacht.

Es handelt sich hier um eine äußerst empfindliche Bakterienform, deren Entwicklung sehr durch Spuren von Säuren gehindert wird und die nur nach Abtötung des immer mit ihm zusammen gefundenen Buttersäure bildenden *Granulobacter saccharobutylicum* zum Wachstum gebracht werden kann.

Alle diese Angaben beweisen die Unwahrscheinlichkeit der Fuselölbildung durch uns bekannte Bakterien. Wenn wir weiterhin darauf hinweisen, daß die meisten der neben höheren Alkoholen und Buttersäure im Fuselöl nachgewiesenen Produkte von den angeführten Bakterien nicht gebildet werden, so können wir den Schluß ziehen, daß diese Bakterien keine Fuselölbildner sind.

Solange uns aber Bakterien, die den Verhältnissen entsprechende Produkte bilden, nicht bekannt sind, müssen wir darauf verzichten, die Bildung des Fuselöls durch Bakterienmitwirkung zu erklären.

Beim heutigen Stande unseres Wissens können wir kaum annehmen, daß solche Bakterien noch gefunden werden. Sie müßten einer uns unbekannten Klasse angehören und sich auf all den Materialien finden, die zur Alkoholdarstellung verwendet werden. Sie müßten weiterhin mit so resistenten Sporen ausgestattet sein, daß diese der vor der Gärung unternommenen Behandlung widerstehen könnten. Ja wir können aus der doch immerhin sehr ähnlichen Zusammensetzung der Fuselöle, die jedenfalls viel weniger als die vergorenen Materialien voneinander abweichen, auf ihre Bildung nur durch mehrere sich nahe verwandte, ja wahrscheinlicher auf eine Art schließen. Daß diese sich aber auf Kartoffeln, Getreide, Melasse, Mais, Eicheln, Zwetschgen, Kirschen finden sollte und sich trotzdem unserer Beobachtung bis jetzt entzogen habe, ist noch unwahrscheinlicher. Auch die zur Bakterientheorie verlockende Tatsache, daß sich Bildner höherer Alkohole auf den so häufig vergorenen Materialien, wie z. B. Kartoffeln, Mais und Getreide finden, ist nur zufälliger Natur. Denn auf diesen können wir naturgemäß alle die Arten finden, die zum großen Heer der Bodenbakterien gehören und die sich vorzüglich auf Materialien anzusiedeln scheinen, welche ihnen als vorzugsweises Gärmedium dienen.

Auf die allbekannte bakterienbekämpfende Milchsäuerung, die heutzutage so allgemein ist, braucht hier nur in kürze hingewiesen zu werden. Daß bei gewissen fehlerhaften Gärungen gleichzeitig mit der Bildung von Fuselöl ein höherer Alkohol, wie z. B. normaler Butylalkohol, gebildet werden kann, wird durch die vorher angeführten Angaben von Claudin und Morin wahrscheinlich gemacht. In solchen Fällen findet sich dann aber auch die dem normalen Butylalkohol entsprechende Menge von Buttersäure.

Durch alle die angeführten Tatsachen wird die Fuselölbildung durch Bakterien sehr unwahrscheinlich gemacht, so daß wir uns der durch das Experiment von Raymann und Kuis wohlgestützten Theorie zuneigen können, daß Fuselöl durch die Hefezersetzung selbst produziert wird.

1) l. c. 48. später. (Beijerinck, M. W., Centralblatt für Bakt. Abt. II, Bd. IX. 1902. p. 18. *Granulobacter butylicum* gibt hauptsächlich normal Propylalkohol.)

Wir können in unseren Schlüssen noch etwas weitergehen. Die Tatsache, daß die Fuselöle so verschiedener Produkte wie Kartoffeln, Getreide, Mais, Melasse, Kirschen, Pflaumen und Eicheln eine so übereinstimmende Zusammensetzung haben, verlockt stark zu dem Schlusse, daß sie aus einem gleichartigen Zwischenprodukt entstanden sind. Diese Theorie wird durch die Mitteilung<sup>1)</sup> von Ehrlich gestützt, in der die Bildung des Amylalkohols durch Zersetzung des Leucins, also eines Eiweißspaltungsproduktes erklärt wird. Ehrlich erhielt in Rohrzuckerlösung durch Reinhefe aus Leucin Isoamylalkohol und aus d-Isoleucin d-Amylalkohol.

Diese Erklärung wiederum steht in guter Uebereinstimmung mit der Tatsache, daß die Fuselölbildung hauptsächlich am Ende der Gärung erfolgt, wenn nämlich das Absterben der Hefe am stärksten ist, und daß sie im allgemeinen durch hohe Temperatur und geschwächte Hefe begünstigt wird. Man müßte danach annehmen, daß es sich eher um die Zersetzung des Hefeeiweißes selbst, als um die Zersetzung der zur Gärung verwandten Stoffe handelt. Diese Frage werde ich einer experimentellen Untersuchung unterziehen.

Es handelt sich jetzt noch darum, mit Hilfe der angeführten Theorie die in der Praxis so allgemein angenommene Tatsache in Einklang zu bringen, daß mit Einführung von Reinkultur die Fuselölbildung zurücktrete. Doch auch dies scheint ganz erklärlich. Denn nach den Untersuchungen von Iwanoff<sup>2)</sup> entsteht bei der Gärung eine flüchtige Substanz, die die Eiweißzersetzung hindert. Die Wirkung dieser die Proteolyse hemmenden Substanz wird z. B. durch Zusatz von Monokaliumphosphat aufgehoben. Man müßte daher annehmen, daß ihre Wirkung durch gleichzeitige Bakteriengärung ebenso gebremst wird und durch die somit stark geförderte Eiweißzersetzung eine stärkere Produktion von Fuselöl veranlaßt wird<sup>3)</sup>.

Auch diese Theorie möchte ich experimentell weiter prüfen und auf die Isolierung der von Iwanoff vermuteten Substanz hinarbeiten.

Jedenfalls muß schon jetzt hervorgehoben werden, daß durch die angeführten Tatsachen, völlig in Anerkennung der neuen Untersuchungen von Ehrlich, zum ersten Male eine Theorie vorgeschlagen wird, die, allen beobachteten Tatsachen Rechnung tragend, die Fuselölbildung erklärt.

### Experimenteller Teil.

Wie schon in meiner kurzen Veröffentlichung in den Berichten angegeben, fand ich den Buttersäurebacillus neben anderen, anscheinend zwei nicht genauer untersuchten Arten auf amerikanischer Kartoffel. Wenn mit dem Korkbohrer ausgestochene Stücke mit sterilisiertem Wasser überschichtet wurden, trat in den meisten Fällen nach 1 Tage heftige Gärung ein und fuselähnlicher Geruch machte sich bemerkbar. Bei Berücksichtigung bekannter Tatsachen erschien es von vornherein wahrscheinlich, daß die höheren Alkohole von der zu Clostridien anschwellenden Art gebildet werden würden. Dies wurde noch wahrscheinlicher, als eine Kultur, die durch 10 Minuten langes Erhitzen auf 80° von lebenden, sporenfreien Bakterien befreit worden war, nach Auskeimen der Sporen eine Gärung derselben charakteristischen Eigenschaft lieferte.

1) Ehrlich, Zeitschrift f. Spiritusindustrie. 1905; Zeitschr. d. Vereins f. Rübenzuckerindustrie. 1905. p. 539.

2) Iwanoff, Leonid, Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. XLII. 1904. p. 464).

3) Vergleiche dazu Iwanoff, l. c. p. 479.

Von dieser gereinigten Kultur wurde die Reinkultur hergestellt. Zu diesem Zwecke wurde ein Kartoffelaufguß nach dem Filtrieren mit 5 Proz. Traubenzucker und der nötigen Menge Agar versetzt und in einem dem Matzuschitaschen<sup>1)</sup> ähnlichen, mit einem Gemenge von Schweinefett und Wachs abgedichteten und mit Wasserstoff gefüllten Apparate nach Inokulation in Petri-Schalen auf 35° gehalten.

Ueber die Kultur der Anaëroben ist in letzter Zeit viel geschrieben worden. Ich möchte hier nur hervorheben, daß mir die Kultur meines Bacillus auf Agarplatte am Anfang viele Schwierigkeiten machte. Ich fand jedoch, daß ich in allen Fällen Wachstum erhielt, wenn ich statt des genannten Apparates Erlenmeyer-Kolben verwendete, die nach dem Ausgießen des Agars mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen waren, durch den zwei Glasröhren eine bis nahe zum Agar, eine andere bis dicht unter den Gummistopfen reichten. Diese Glasröhren waren außerhalb des Kolbens zu Kapillaren ausgezogen, die nach dem Füllen mit Wasserstoff abgeschmolzen wurden, woraufhin der Stopfen sofort paraffiniert wurde.

Ich glaube daher, daß die Deutung v. Kleckis (l. c. p. 128), der dieselbe Schwierigkeit bei der Reinkultur seines *B. saccharobutyricus* beobachtete, nicht auf die dünne Agarschicht, sondern auf ein unvollkommenes Schließen des Wasserstoffbehälters zurückzuführen ist. Eine dicke Agarschicht mag ja das Wachstum auch bei unvollkommener Anaërobiose für tiefliegende Kulturen begünstigen.

Das Bild der Agarkultur ist von dem des G. und Sch.schen Bacillus nicht unbedeutend verschieden (Fig. 2). Während bei diesem die Kultur gleichmäßig und wenig differenziert ist, treten bei meinem Bacillus, besonders in der Oberflächenkultur, regelmäßige Ringe auf, während die Tiefenkultur häufig durch die entweichenden Gase spindelförmig aufgespalten wird. Ob sich der Unterschied im Bilde zum Teil durch Verwendung des etwas anders zusammengesetzten Nährbodens Kartoffelaufguß statt Peptonbouillon erklären läßt, ist schwer zu sagen. Mir scheint es unwahrscheinlich. Auch das Bild des Matzuschitaschen *Clostridium butyricum* (l. c. Taf. I, Fig. 1) unterscheidet sich von den genannten durch die wellige, tief eingeschnittene Umrandung. Ich glaube, daß die Hoffnung durch das Bild der Plattenkultur so ähnliche Arten wie die Buttersäurebakterien des Typus *mobilis non liquefaciens* zu unterscheiden sich kaum erfüllen wird. Die einzige Möglichkeit wäre, von den Urstämmen ausgehend, unter genau denselben Bedingungen, d. h.: zur selben Zeit und am selben Orte Züchtung zu unternehmen. Ich konnte meine Art auf Traubenzuckerbouillon Peptonagar so schlecht zum Wachstum bringen, daß daran die Möglichkeit eines so detaillierten Vergleiches scheiterte.

Die von Matzuschita (l. c. p. 47) beobachtete Begünstigung des Wachstums auf Agarplatte durch Vermehrung des Traubenzuckergehalts (bei *Clostridium butyricum* bis zu 60 Proz.) konnte ich bei meinem Bacillus nicht konstatieren. Bei 40 Proz. Glukosezusatz konnte nur schwaches Wachstum beobachtet werden. 5 Proz. Glycerin begünstigte das Wachstum, wenn auch nicht in dem Maße, wie 5 Proz. Traubenzucker. Das Gleiche trat bei der Agarstichkultur hervor. 5 Proz. Traubenzucker-Kartoffelaufguß-Agarstichkultur zeigte Tiefenwachstum nach 1 Tage, während bei 40 Proz. Traubenzuckerzusatz erst nach

1) Matzuschita, Teïsi, Zur Physiologie der Sporenbildung der Bacillen, mit Bemerkungen zum Wachstum einiger Anaëroben. Dissertation Halle, 1902.

4 Tagen Tiefenwachstum zu bemerken war. In letzterem Falle zeigte das mikroskopische Bild Involutionsformen und keine Vorbereitung zur Sporenbildung in der Clostridienform.

Der Agarstich ist wenig charakteristisch. Schon kurz nach Erscheinen des makroskopischen Wachstums wird der Agar durch die gebildeten Gasblasen zerrissen und häufig aus dem Reagenzglas herausgeschleudert. Die Gelatinestichkultur verhält sich ähnlich. Eine von Gasblasen zerrissene Kultur, die durch mehrstündiges Stehen im Thermostaten bei 35° geschmolzen war, wurde nach dem Erkalten wieder fest. Auf diese Weise wurde die Nichtverflüssigung der Gelatine sicherer nachgewiesen als das durch bloße Beobachtung einer durch Blasen zerrissenen Kultur möglich ist. In all diesen Versuchen war der Nährboden genau neutral. In einem Falle wurde versucht, den schwach sauren Kartoffelaufguß nicht zu neutralisieren und zu sehen, ob die Gelatine verflüssigt wurde, wenn sie so in schwachsaurer Form zur Verwendung kam. Das Resultat war also selbst bei gutem Wachstum negativ, so daß meine frühere Angabe zu korrigieren ist.

Die Beobachtungen Matzuschitas (l. c. p. 67) über die Sporenbildung bei anaëroben Bakterien konnte ich in ihren Grundzügen bestätigen. Große Intensität der Sporenbildung trat nur infolge von kräftigem Wachstum ein. In der Wasserstoffatmosphäre wurde sie erst durch Verschlechterung des Nährbodens hervorgerufen, während es im offenen Gefäß, z. B. auf mit Wasser bedeckter Kartoffel, bei gutem Wachstum sofort zur Sporenbildung kam.

Um den Einfluß des Sauerstoffs auszuschalten, wurde die Prüfung der Gärfähigkeit in allen Fällen in der Wasserstoffatmosphäre unternommen. Es dienten dazu mit doppelt durchbohrtem und paraffiniertem Gummistopfen verschlossene Reagenzrohre. Durch die eine Durchbohrung führte ein kurzes, gebogenes Glasrohr, das auf der einen Seite kurz unter dem Stopfen endete, während es auf der anderen Seite in einem kleinen Reagenzrohr in Wasser tauchte. Dieses kleine Reagenzrohr wurde durch Watte in seiner Stellung gehalten, die gleichzeitig dazu diente, das Wasser steril zu halten, um im Falle des Zurücksteigens eine Infizierung der Nährlösung zu verhindern. Durch die andere Durchbohrung führte ein Rohr bis in die Tiefe der Nährlösung. Außen wurde es zu einer Kapillare ausgezogen und am anderen Ende der Kapillare zur Sterilisation mit Watte verschlossen. Nach der Impfung mit ein paar Oesen einer in kräftiger Gärung befindlichen Kultur — es wurde besonders darauf geachtet, daß die Kultur nicht älter als 48 Stunden war — wurde dieses offene Ende sofort mit dem Wasserstoffapparat in Verbindung gebracht, wobei die Watte zur Filtration des Gases im Rohr belassen wurde. Nach Prüfung auf Reinheit des Wasserstoffs durch Anzünden wurde noch mehrere Minuten durchgeleitet und dann die Kapillare abgeschmolzen. Mit dieser Vorsicht trat nie Explosion ein.

Die Nährlösung enthielt neben Pepton und Salzen  $[\text{CaCO}_3, (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4, \text{NaNO}_3, \text{CaSO}_4, \text{MgSO}_4, \text{KH}_2\text{PO}_4]$  etwa 2 Proz. des zu prüfenden Gärmaterials. Bei Rohr-, Trauben-, Frucht- und Milchsucker, Galaktose, Maltose, Mannit und Glycerin konnte schon nach 24 Stunden Gärung beobachtet werden. Bei milchsaurem Kalk trat bei längerem Stehen und mehreren Versuchen in keinem Falle Gärung ein. Die Prüfung auf die Stickstoffnahrung wurde mit Traubenzucker und stickstofffreien Salzen in Gegenwart von kohlensaurem Kalk unternommen, denen mit positivem Erfolg Pepton, Asparagin, schwefelsaures Ammonium ohne und salpetersaures Natrium mit Verlangsamung des Eintritts der Gärung zugesetzt wurden.



## Prüfung auf Gärprodukte.

### Die Alkohole.

Im Vordergrund des Interesses stand hier die Zusammensetzung der gebildeten Alkohole. Hervorzuheben ist hier besonders, daß sie durch die vergorenen Kohlehydrate offenbar in ihrer Zusammensetzung nicht beeinflußt wurden. Denn gekochte Kartoffel, Kartoffelstärke, die bis zum Verschwinden der Jodreaktion mit Malz hydrolysiert war, Melasse und reine Glukose gaben dieselben Alkohole.

Zur Prüfung auf Alkohole wurde mit Dampf destilliert, bis im Kühler keine Oeltropfen mehr sichtbar waren, das Destillat mit Pottasche gesättigt, und die abgehobenen Alkohole über Nacht mit geglühter Pottasche getrocknet. Zur völligen Entwässerung wurden sie dann mehrere Stunden am Rückflußkühler mit Bariumoxyd gekocht, wonach die gelbe Farbe der Lösung auf völlige Entwässerung hindeutete, und schließlich mit einem Hempelschen Aufsatz fraktioniert. Das Thermometer stieg rasch auf  $83^{\circ}$ , so daß die Anwesenheit von Aethylalkohol unwahrscheinlich gemacht wurde; dann verharnte es längere Zeit bei dieser Temperatur und stieg dann rasch über  $100^{\circ}$  hinaus bis auf  $116^{\circ}$ . Dann fing der normale Butylalkohol an überzugehen, wobei sich die Temperatur zwischen  $116$ – $118^{\circ}$  hielt. Dabei ging fast der ganze Rest über. Die geringe zurückbleibende Menge destillierte bis zu  $120^{\circ}$ , so daß die Anwesenheit irgendwie bemerkbarer Mengen von Amylalkohol ausgeschlossen war. Der Anfangssiedepunkt des Alkoholgemisches von  $83^{\circ}$  (Thermometer im Dampf) war  $5^{\circ}$  höher als der Siedepunkt des Aethylalkohols. Er korrespondierte genau mit dem des Isopropylalkohols. Die Anwesenheit dieses als Gärprodukt eines Mikroorganismus war noch nie beobachtet worden, so daß nur nach sehr kräftigen Beweismomenten auf ihn geschlossen werden konnte. Die Möglichkeit eines gleichartig siedenden Gemisches wurde berücksichtigt. Da sich der Siedepunkt bei wiederholter Fraktionierung aber nicht änderte, wurde auf Isopropylalkohol geschlossen. Nach Ueberführung eines bei  $83^{\circ}$  siedenden Anteils in sein Jodid mit Jod und Phosphor wurde dessen Siedepunkt bei  $89^{\circ}$  (Thermometer im Dampf) gefunden, der zur Charakterisierung von dem des Aethyljodids bei  $72^{\circ}$  und des normalen Propyljodids  $102^{\circ}$  weit genug entfernt ist.

0,6159 g Isopropyljodid gaben nach der Methode von Carius 0,8503 g AgJ.

Berechnet für  $C_3H_7J$   
74,71 Proz. J

Gefunden  
74,85 Proz. J

Der Alkohol wurde weiterhin durch Oxydation in sein Keton als sekundärer Alkohol charakterisiert und das gebildete Aceton in Benzilidenaceton übergeführt<sup>1)</sup>. Da Aethyl- und normaler Propylalkohol unter keinen Umständen zu Aceton oxydiert werden können, wurde so die Anwesenheit des Isopropylalkohols über jeden Zweifel erhoben.

Schon Beijerinck (l. c. p. 49) vermutete unter den Gärprodukten seines Butylfermentes einen Propylalkohol, den er aber nicht genau charakterisierte. Durch meine Untersuchung wurde so der Isopropylalkohol zum ersten Male als Bakteriengärprodukt nachgewiesen.

Der bei  $117^{\circ}$  siedende Anteil wurde in das Jodid verwandelt. Dieses siedete dem normalen Butyljodid entsprechend bei  $129^{\circ}$ .

0,1531 g Substanz gaben nach der Methode von Carius verbrannt 0,1968 g AgJ.

Berechnet für  $C_3H_7J$   
69,0 Proz. J

Gefunden  
69,29 Proz. J

1) Mulliken, S. P., A method for the identification of pure organic compounds. New York (John Wiley and Sons) 1904. p. 170.

Ein anderer Teil des n-Butylalkohols wurde durch Kochen am Rückflußkühler mit einer Lösung von 78 g Kaliumbichromat und 105 g konzentrierter Schwefelsäure im Liter zu seiner entsprechenden Säure oxydiert. Die Säure wurde mit Dampf abdestilliert mit Bariumkarbonat neutralisiert und das gebildete Bariumsalz nach mehrmaligem Aufkochen vom ungelösten Bariumkarbonat abfiltriert und zur Trockne eingedampft. Das völlig weiß zurückbleibende Salz wurde nach dem Trocknen bei 100° mit einem Ueberschuß von konzentrierter Schwefelsäure abgeraucht und als Bariumsulfat geglüht und gewogen.

	0,7305 g Bariumsalz gaben	0,5537 g BaSO <sub>4</sub> .
Gefunden		Berechnet für (C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Ba
Proz. Barium	44,62	44,08

Die Menge der gebildeten Alkohole ist sehr schwankend. Da sie durch Kalkzusatz nur vermindert wird und andererseits die Gärung durch die gebildeten Säuren bald gehemmt wird, so kann von einer quantitativen Kohlehydratzersetzung und einer Ausnutzung dieser Gärung zur Beschaffung der im Handel so viel verlangten höheren Alkohole keine Rede sein.

Bei der Fraktion I erhielt ich:		Summa:	
Isopropylalkohol	16 g	Isopropylalkohol	29 g
Zwischen 100—115°	41 "	n-Butylalkohol	112 "
n-Butylalkohol	85 "		
Fraktion II:			
Zwischen 80—90°	13 "		
n-Butylalkohol	27 "		

Dies entspricht etwa einer Zusammensetzung der gebildeten Alkohole von 75 Proz. n-Butylalkohol und 25 Proz. Isopropylalkohol.

#### Die gebildeten Säuren.

Zum Nachweis der gebildeten Säuren hielt ich mich schon des Vergleiches wegen an die Methode von Grassberger und Schattenfroh.

2 l einer 10-proz. Traubenzuckerlösung, die die nötige Menge Pepton und Salze enthielt, wurde in einer Wasserstoffatmosphäre mit Reinkultur vergoren. Die Gärung setzte nach 24 Stunden ein und war nach 3 Wochen beendet. Die Lösung wurde dann pro Liter mit 25 ccm einer verdünnten Schwefelsäure (1:3) versetzt und über Nacht stehen gelassen. Dann wurde vom gebildeten Gips abfiltriert und eine dem Volumen gleiche Menge mit Dampf abdestilliert. Das Destillat wurde mit Aetzbaryt schwach alkalisch gemacht und das überschüssige Barium mit Kohlensäure als Karbonat gefällt. Nach dem Filtrieren wurde wiederum mit Dampf destilliert, die ersten 400 ccm gesondert aufgefangen und etwa 600 ccm zurückgelassen. Der Rückstand wurde auf dem Wasserbade eingedampft und repräsentierte die Barytsalze der flüchtigen Säuren. Ein Teil dieser Salze wurde bei 130° getrocknet, gewogen und nach Abrauchen mit überschüssiger konzentrierter Schwefelsäure in Bariumsulfat übergeführt.

I. 0,2506 g Bariumsalz gab	0,9606 g BaSO <sub>4</sub> .	
Für buttersaures Barium (C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Ba berechnet		Gefunden
Ba = 44,08 Proz.		Ba = 44,92 Proz.
II. 0,2401 g Bariumsalz gab	0,1846 g BaSO <sub>4</sub> .	
		Gefunden
		Ba = 45,06 Proz.

Auch Grassberger und Schattenfroh erhielten eine Zusammensetzung der Bariumsalze, die auf die Anwesenheit geringer Mengen von Säuren mit weniger Kohlenstoffgehalt hinwies. Ebenso wie sie konnte ich die Anwesenheit von Ameisensäure durch Reduktion von Silbernitrat zu metallischem Silber durch die neutralen Salze nachweisen.

Ein Versuch, die Säuren nach Oxydation der Ameisensäure<sup>1)</sup> mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure in Form ihrer trockenen Bariumsalze<sup>2)</sup> durch fraktionierte Lösung mit absolutem Alkohol zu trennen und durch ihren Bariumgehalt zu identifizieren, gelang mir infolge zu geringer Mengen nicht. Da aber der Bariumgehalt nach Entfernen der Ameisensäure noch zu hoch gefunden wurde, schließe ich auf die Anwesenheit geringer Mengen von Essig- und möglicherweise Propionsäure.

Die von der Bariumsalzlösung abgetriebenen 400 ccm wurden nochmals mit Dampf destilliert und die ersten 100 ccm Destillat mit Pottasche entwässert. Die abgeschiedene Oelschicht wurde durch Siedepunktvergleichung mit den vorher beschriebenen Alkoholen identifiziert.

Der Rückstand des ersten Destillates, welcher die nicht flüchtigen Säuren enthielt, wurde mit Natriumhydrat schwach alkalisch gemacht, stark eingedampft und nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure mehrere Tage im kontinuierlichen Aetherextraktor ausgezogen. Der Aether nahm die nicht flüchtigen Säuren auf und hinterließ sie nach dem Verdampfen. Sie wurden durch Behandeln mit Barium-Karbonat, nach Aufkochen, Filtrieren und Eindampfen bei 100° getrocknet als Bariumsalz gewogen. Dieses Salz wurde dann durch Abrauchen mit einem Ueberschuß von konzentrierter Schwefelsäure in Bariumsulfat übergeführt.

0,5805 g Bariumsalz gab	0,4291 g BaSO <sub>4</sub> .
Berechnet für	Gefunden
(C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Ba = 43,31 Proz.	Ba = 43,33 Proz.

In Uebereinstimmung mit den Resultaten von Grassberger und Schattenfroh war die Anwesenheit der Milchsäure erwiesen.

#### Die Glyceringärung.

Da die Gärung des Glycerins durch Schizomyceten seit Fitz besonderes Interesse beansprucht, wurde sie speziell untersucht,

Ein l. einer 20-proz. Glycerinlösung, die 2,5 g Pepton, 5 g CaCO<sub>3</sub> und die nötigen Salze enthielt, wurde in Wasserstoffatmosphäre vergoren. Die Gärung war bei mehreren Versuchen nur schwach. Nach 14 Tagen wurde genau wie die Traubenzuckerlösung analysiert.

Alkohole konnten auch mit der Jodoformreaktion nicht nachgewiesen werden. Die Bariumsalze der flüchtigen Säuren zeigten eine genaue Uebereinstimmung mit denen der Traubenzuckergärung.

0,5690 g Bariumsalz gab	0,4348 g BaSO <sub>4</sub> .
Prozentgehalt der Bariumsalze der	Prozentgehalt der Bariumsalze der
Traubenzuckergärung	Glyceringärung
im Mittel 44,99 Ba	44,79 Proz. Ba

Der Bariumgehalt der aus nicht flüchtigen Säuren hergestellten Salze wurde für Milchsäure etwas zu niedrig gefunden. Da das Salz aber beim Trocknen schwach gebräunt war, dürfte die Differenz auf Analysenfehler zurückzuführen sein.

0,2042 g Bariumsalz gab	0,1388 g BaSO <sub>4</sub> .
Berechnet für (C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Ba =	Gefunden
43,31	39,91 Proz. Ba

#### Zusammenwirkung von Reinkulturen des Buttersäurebacillus und von Hefe.

Da die gemeinsame Entwicklung von Hefe und Bakterien so häufig zur Erklärung für die Bildung höherer Alkohole neben Aethylalkohol

1) Macnair, D. S., Chem. News. Vol. LV. 1887. p. 229.

2) Luck, E., Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. X. 1871. p. 185; vergleiche auch Windisch, l. c. p. 161.

herangezogen wurde, schien eine experimentelle Untersuchung auch im gegebenen Falle von Interesse. Denn wenn auch der benutzte *Bacillus* kein Fuselöl, sondern im Gegenteil gerade die im Fuselöl nicht aufgefundenen Alkohole, Isopropyl- und normalen Butylalkohol produziert, so müßte sich doch aus dem quantitativen Verhältnis der gebildeten Produkte ein Analogieschluß machen lassen.

Zu diesem Zwecke wurde zuerst eine etwa 6 l betragende Kartoffelmaische hergestellt, die mit Malz bis zur verschiedensten Jodreaktion hydrolisiert war. Diese wurde dann mit einer etwa gleichen Menge einer kräftigen Reinkultur von *Saccharomyces cerevisiae* und des *Bacillus* versetzt. Die Entwicklung der Mikroorganismen fand gemeinsam statt, eine kräftige Gärung setzte ein und nach 4 Tagen zeigte der mikroskopische Befund auf eine Hefezelle etwa 8–10 Bakterien. Die Menge der gefundenen Bakterien wurde weit größer gefunden, als das in der Praxis je der Fall sein dürfte. Dieser Befund entsprach ganz dem beabsichtigten, denn es lag mir daran, eventuell neben Aethylalkohol möglichst große Mengen höherer Alkohole zu erzeugen, um sie dann mit größerer Sicherheit nachweisen zu können.

Nach 20 Tagen wurden die Alkohole mit Dampf abgetrieben, mit Pottasche entwässert, dann zuerst mit geglühter Pottasche und schließlich mit Bariumoxyd — wie vorher beschrieben — getrocknet. Bei mehrfacher Destillation mit einem Leblschen Aufsatz konnte ich keine Abtrennung höherer Alkohole in faßbarer Menge erzielen. Das Thermometer stieg nicht über 78°.

Aus diesem Versuch geht hervor, daß die Menge der vom *Bacillus* neben Hefe gebildeten höheren Alkohole, trotz seiner Anwesenheit in so großer Menge, sehr gering sein muß. Falls er für die Bildung höherer Alkohole neben Aethylalkohol verantwortlich gemacht werden sollte, hätte man unter diesen Versuchsbedingungen eine Abscheidung höherer Alkohole erwarten müssen. Auch Perdrix hat angeführt, daß in einem ähnlichen Versuche, in dem er nicht hydrolisierte Stärke mit seinem *Bacillus* und Hefe zu gleicher Zeit behandelte, dem *Bacillus* die Rolle des Zuckerspalters und der Hefe die Vergärung zufiel und so Aethylalkohol erhalten wurde.

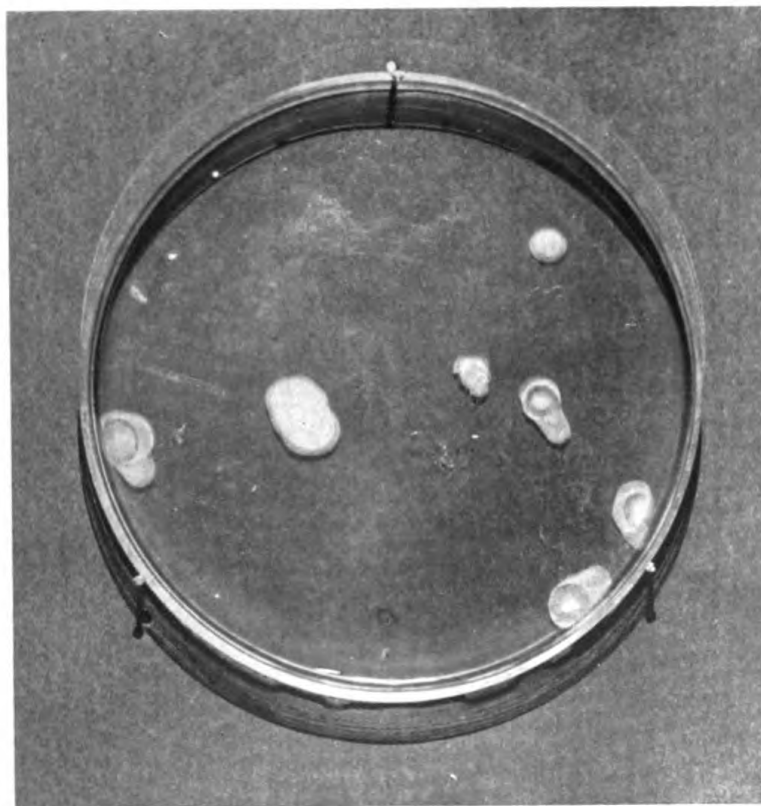
Ich beabsichtige ähnliche Versuche der Zusammenwirkung zweier Organismen in größerem Maßstabe anzustellen. Bis jetzt entspricht das Resultat jedenfalls nicht der Theorie der Fuselölbildung durch Bakterien.

### Zusammenfassung.

Im vorstehenden wurde gezeigt:

- 1) Daß die Zusammensetzung der Fuselöle verschiedener Gärmaterialien eine auffallend übereinstimmende ist, daß sie unter normalen Umständen an höheren Alkoholen neben Amylalkohol Propyl- und Isobutylalkohol in größerer Menge und Alkohole mit mehr Kohlenstoffarten in geringer Menge enthalten, und daß normaler Butylalkohol in ihnen nicht vorkommt.
- 2) Daß alle Bildner höherer Alkohole unter den Bakterien vorzugsweise normalen Butylalkohol bilden, und daß Amylalkohol als Bakterien-gärprodukt noch nicht in faßbarer Menge nachgewiesen wurde. Hier ist vor allem die Kritik der Perdrixschen Angaben zu betonen.

Daran schloß sich hier eine Zusammenfassung aller Bakterien, die höhere Alkohole bilden, wobei hervorgehoben wurde, daß normaler Propylalkohol von den neuen Emmerlingschen Kartoffelbakterien, Isopropylalkohol von meinem Kartoffelbacillus, Isobutylalkohol vom Grimbertschen *B. orthobutyricus* und normaler Butylalkohol



**Fig. 1.**

Verlag von **Gustav Fischer in Jena.**



von einer größeren Menge von Bakterien neben Buttersäure, angeblich in Abwesenheit von Buttersäure vom Beijerinckschen *Granulobacter butylicum*, dem Butylferment par excellence, gebildet werden.

Das Winogradskische *Clostridium Pasteurianum* wird durch die Art sowohl der Kohlenstoff wie der Stickstoffnahrung sehr in Bezug auf die Bildung von Alkoholen beeinflusst. Winogradski gibt an, daß es Aethyl-Normalpropyl-Isobutyl- und Normalbutylalkohol bilden könne.

3) Daß die Alkoholbildner unter den Bakterien, mit Ausnahme des letzteren, weit größere Mengen Buttersäure bilden, als das der Zusammensetzung des Fuselöls entspricht.

4) Daß infolge dieser Angaben die Theorie der Fuselölbildung durch Bakterien aufzugeben sei, und an ihre Stelle eine andere treten müsse, die die Bildung höherer Alkohole auf die Zersetzung des Hefeeiweißes zurückführt.

5) Im 2. Teile wurden die Bakterien des Typus *mobilis non liquefaciens*, welche aus Kohlehydrate Buttersäure bilden, zusammengefaßt, ihre bewiesene und vermeintliche Identität kritisiert und hervorgehoben, daß manchen Arten — sicher der aus amerikanischer Kartoffel — die Fähigkeit zukommt, konstant höhere Alkohole zu bilden.

6) Weiterhin wurde auf verschiedene Einzelheiten des Wachstums und der Sporenbildung der Anaëroben hingewiesen und am Ende die Zusammenwirkung einer derselben mit Hefereinkultur auf die Bildung höherer Alkohole untersucht.

Cambridge, Mass., U. S. A., Juli 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Edamerkäsereifung.

[Mitteilungen aus dem bakteriologischen Laboratorium der landwirtschaftlichen Versuchsstation Hoorn in Holland.]

Von F. W. J. Boekhout und J. J. Ott de Vries.

Im Jahre 1901 erschien in dieser Zeitschrift eine von uns geschriebene Abhandlung über dieses Thema. Seitdem sind die diesbezüglichen Untersuchungen regelmäßig weiter geführt worden, und teilen wir im folgenden die damit erhaltenen Ergebnisse mit. Schon früher ist von uns darauf aufmerksam gemacht worden, daß die bisher gebrauchten Nährsubstrate in hohem Grade abwichen von den natürlichen Lebensbedingungen, welche die Reifungsbakterien im Käse antreffen, und daß infolgedessen Abweichungen entstehen, welche großen Einfluß haben können. So gelang es, durch den Gebrauch von Käsegelatine (für deren Bereitungsweise sei hier auf die vorige Abhandlung verwiesen) nachzuweisen, daß im Käse die eigentlichen Milchsäurefermente (womit wir diejenigen andeuten, welche sich nur bei der Anwesenheit von Milchsucker im Käse entwickeln, unter hervorragender Milchsäurebildung) schon früh in latentem Zustande eintreten. Ihre Rolle bei der Käse-reifung kann also nur die sein, daß sie in kurzer Zeit einen stark sauren Nährboden schaffen und dadurch einer großen Anzahl von Bakterien, welche sonst in der Milch vorkommen, das Leben unmöglich machen und sie zum Absterben bringen, also eine Art Selbstreinigung des Käses herbeiführen. Damals ist diese hervorragende Eigenschaft der Milchsäurebakterien von uns betont worden, und seitdem sind verschiedene Autoren uns darin beigetreten, wie z. B. die Publikationen zeigen von

Ed. von Freudenreich (Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1901. Ueber die Rolle des Milchzuckers bei der Käsureifung.) und S. M. Babcock und H. L. Russell (Centralbl. für Bakt. II. Abt. Bd. IX. p. 757. Einfluß des Zuckers auf die Natur der in der Milch und dem Käse vor sich gehender Gärung.) und auch diejenige von H. W. Conn und W. M. Esten (The effect of different temperatures in determining the species of bacteria which grow in milk. Report of the Stores Agricultural Experiment Station Connecticut 1904.). Eine ihrer Schlußfolgerungen heißt: 4° The development of the ordinar lactis species: *Bact. lactis acidii* in practically all cases checks the growth of other species of bacteria and finally kills them, since the bacteria regularly decrease in actual numbers after the lactic bacteria have become very abundant. The development of lactic bacteria thus serves as a protection both to the milk and the person drinking it, since it prevents the growth of other bacteria. This effect is probably due to the production of lactic acid, and is not noticeable in milk only a few hours old. The presence of large number of lactic bacteria in milk is not an indication that the milk is unwhole some.

Diese Publikationen kommen im großen Ganzen alle zu demselben Ergebnisse und bilden einen bedeutenden Beitrag zu der Bakteriologie eines der Hauptstadien des Käsureifungsprozesses, der Milchsäuregärung. In welcher Weise die Milchsäurebakterien in dem Käse vorkommen, ist von Gorini und Gerda Troili-Petersson aufgeklärt worden. Aus der Uebereinstimmung von Käse mit den üblichen festen Nährböden, wie Molkengelatine, denn er bildet ja eine Flüssigkeit, aufgesogen in einen festen Körper, den Käsestoff, konnte man a priori schon schließen, daß die darin ausgesäten Bakterien auswachsen würden zu kleinen Kolonien. Dies war aber noch nicht nachgewiesen und die eben genannten Autoren lieferten erst dazu den direkten Nachweis (Gerda Troili-Petersson, Studien über die Mikroorganismen des Schwedischen Güterkäses. Centralbl. für Bakt. Abt. II. Bd. XI. p. 212. Gorini, Ueber die Verteilung der Bakterien im italienischen Granakäse. Centralbl. für Bakt. Abt. II. Bd. XII.)

Färbt man sehr dünne Schnitte von Edamerkäse nach vorheriger Behandlung mit Aether zur Entfettung, z. B. mit Karbolmethylenblau, so sieht man bei 500-facher Vergrößerung kleine Kolonien, welche fast ausschließlich aus Diplokokken bestehen. Die Kolonien geben aber wenig Aufschluß über das Reifen des Käses, man findet sie auch nicht nur in allen reifen Käsen, sondern gleichfalls in sehr jungen Käsen. In Edamerkäse, welche nach der in Holland üblichen Methode aus Milch hergestellt waren, welche einen Zusatz von Milchsäurefermenten erhalten hatte, fanden wir schon eine große Zahl Kolonien, wenn der Käse bloß 5 Tage alt war. Freilich ruft die Impfung mit Milchsäurefermenten eine bedeutend intensivere Milchsäuregärung hervor, welche so schnell verläuft, daß der Milchzucker schon nach einem Tage verschwunden ist, so daß die Menge der Kolonien viel größer sein kann wie ohne Impfung.

Der Unterschied im mikroskopischen Aspekt zwischen sehr jungem Käse (5 Tage) und altem Käse ( $\pm$  8 Monate) besteht vorwiegend darin, daß, während die Bakterienformen in dem ersten sehr deutlich als Diplokokken zu unterscheiden sind, dieselben bei dem alten Käse mehr oder weniger verloren haben; die Umrisse sind weniger scharf, die Bakterien erscheinen sozusagen eingetrocknet.

Aus alledem zeigt sich, daß die nachfolgende Bemerkung Gorinis wenigstens nicht zutrifft für Edamerkäse (p. 80): „Beim ganz frischen Käse herrscht die Zerstreuungsform vor; ihre Menge nimmt mit dem



Vorschreiten der Reifung ab, während die Gruppierungsform mehr und mehr hervortritt. Man kann sagen, daß die Bakterienvermehrung, welche zuerst durch die ganze Masse vor sich geht, in der Folge vorzugsweise auf bestimmte Stellen sich konzentriert, wodurch die Kolonien an Zahl und Größe zunehmen.“ Es ist überhaupt fraglich, ob die sogenannte Zerstreuungsform, welche auch bei Troili-Petersson Erwähnung findet (p. 212): „Zuweilen trifft man auch Gruppen von wenigen Bakterien an“, nicht eher die Folge ist von der Herstellung des Schnittes. Dabei kann es kaum fehlen, daß man das Messer quer durch eine Kolonie zieht, und es ist einleuchtend, daß in dieser Weise leicht einige Bakterien mitgenommen werden, um etwas weiter in der Käsemasse festzukleben.

Die bakteriologische Untersuchung vieler Käse in verschiedenen Reifungsstadien hat uns immer dasselbe gelehrt. Die größte Zahl der Mikroorganismenarten der Milch findet man in dem Käse gewöhnlich nach einigen Tagen nicht wieder, dagegen nehmen die Milchsäurefermente stark zu und am Ende trifft man sonst nichts als Milchsäurebakterien an. Andere Untersucher geben zwar diesbezüglich andere Angaben, aber das muß unseres Erachtens dem Umstande zugeschrieben werden, daß dieselben à tort et à travers die natürlichen Verhältnisse, wie sie im Käse vorkommen, außer Betracht lassen und mit Nährböden arbeiten, deren Zusammensetzung in keinerlei Beziehung mit derjenigen des Käses steht. Beispiele davon kann man im Ueberfluß finden in den verschiedenen Publikationen über diesen Gegenstand, welche in den letzten Jahren veröffentlicht worden sind.

Ausgehend von der Tatsache, daß bis jetzt nur Milchsäurefermente irgend einer Form während der Reifung des Edamerkäses nachgewiesen sind, liegt die Vermutung nahe, daß die Milchsäurefermente die Ursache der Reifung bilden, wie v. Freudenreich schon vor über 10 Jahren annahm. Unsere Versuche der letzten 4 Jahre beschränkten sich in der Hauptsache auf Untersuchung dieser Hypothese. Die Bakterien, welche zur Untersuchung dienten, wurden isoliert aus Käse, während als Nährmedia Molkengelatine und Käsegelatine zur Verwendung kamen. Wie schon 1901 betont wurde, wachsen auf Molkengelatine nur Diplokokken aus dem Käse, also nur die echten Milchsäurefermente, welche nur bei Anwesenheit von Milchzucker wachsen können, auf Käsegelatine dagegen wachsen nur diejenigen, welche nicht gerade den Milchzucker brauchen und einer saueren Reaktion des Nährbodens widerstehen, also sich in ihren Lebensbedingungen dem jungen Käse anpassen.

Die erste Serie der Versuchskäse diente zur Bestimmung des Anteils, welchen die echten Milchsäurefermente bei der Käsereifung haben. Zur Verwendung kam auch hier, wie in allen folgenden Versuchen, aseptische Milch, gewonnen in der früher beschriebenen Weise. Die Milch wurde gleichmäßig über die beiden Käsewannen verteilt, indem aus jedem 10 l haltenden Gefäß die Hälfte in jede Käsewanne gegossen wurde, so daß die Zusammensetzung der Flüssigkeit in beiden Käsekübeln in chemischer wie in bakteriologischer Hinsicht dieselbe war. Die eine Hälfte der Milch erhielt nun die zu prüfende Reinkultur oder eine Mischung von Reinkulturen, während die Milch in der zweiten Wanne für sich verarbeitet wurde und eine Kontrolle auf eine tadellose Produktion der aseptischen Milch lieferte. Die Aenderungen, welche den schon in der aseptischen Milch vertretenen Bakterienarten zugeschrieben werden mußten, wurden in dieser Weise durch den Kontrollkäse gezeigt. Die Hinzusetzung des Labpräparates, die Gerinnung, das Salzen, kurzweg

die ganze Bearbeitung, ebenso wie die Aufbewahrung, fand nach der üblichen Methode der Edamerkäsebereitung statt<sup>1)</sup>.

13. März 1901. Versuchskäse und Kontrollkäse, jeder aus 13 l Milch. Der erste enthält ein Milchsäureferment, isoliert aus einem 2 Monate alten Käse mittels Molkengelatine (siehe bez. deren Bereitung Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. p. 588). Verschiedene der darauf gezogenen Kolonien wurden in sterilisierte Milch geimpft und die vier stärksten, welche also am ersten die Milch zum Gerinnen brachten, wurden angehalten und auf Molkengelatineplatten auf ihre Reinheit untersucht. Der Versuchskäse erhielt die Kultur, bezeichnet No. 8, die anderen waren angedeutet als 5, 6 und 7. Am 18. Juni, also nach 3 Monaten, gleicht der Kontrollkäse frischgesalzenem Bruche, hat also keine Aenderung erlitten, während der Versuchskäse zwar sauer geworden ist, aber keine Reifung zeigt.

15. März. Hergestellt ein Versuchskäse und ein Kontrollkäse, jeder aus 12 l. Der Versuchskäse enthält die erwähnte Kultur No. 7. Die Ergebnisse am 18. Juni sind auch hier: Kontrollkäse unverändert, Versuchskäse nicht gereift.

20. März. Bereitet ein Versuchskäse und ein Kontrollkäse, jeder aus 13 l. Der Versuchskäse erhielt die Kultur in Kölbchen 6. Am 18. Juni ist der Kontrollkäse unverändert, der Versuchskäse zwar sauer aber nicht reif.

22. März. Zwei Käse gemacht, jeder aus 13 l Milch. Der Versuchskäse bekommt die Kultur des Milchsäurefermentes im Kölbchen No. 5. Resultate am 18. Juni dieselben wie bei den drei vorhergehenden.

Hieraus geht also hervor, daß alle Käse, welche mit Milchsäurebakterien geimpft worden waren, keine Reifung zeigten. Dies stimmt mit demjenigen, was die Kulturmethode schon gezeigt hatte, daß, sobald der Milchzucker verschwunden ist, diese Bakteriengruppe in einen latenten Zustand eintritt. Uebrigens gibt dieser Versuch Veranlassung zu einiger Bemerkung bezüglich des Einflusses der mit dem Labe zugesetzten Pepsine. Nach einigen Bakteriologen (siehe Orla Jensen, Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz. 1900. Studien über die Enzyme im Käse, und 1901, Ueber die Einwirkung proteolytischer Enzyme auf die Käsereifung; S. M. Babcock und H. L. Russell, Centralbl. für Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 817) würden die Pepsine, welche infolge der Bereitungsweise des Labe darin vertreten sind, eine nicht unbedeutende Rolle bei der Käsereifung spielen. Aus diesen Versuchen war ebenso wenig, wie aus allen übrigen, ein Einfluß davon nachzuweisen.

Die zweite Serie der Versuchskäse, gleichfalls bestehend aus 4 Stück, sollte zur Bestimmung des Einflusses dienen, welchen Stäbchenbakterien, erwähnt im Bericht von 1901, für sich allein auf die Reifung ausüben.

26. März. Hergestellt aus 26 l, selbstverständlich aseptischer, Milch, ein Kontrollkäse und ein Versuchskäse. Die hierzu gebrauchte Stäbchenkultur auf Käsegelatine angelegt von einem Käse, hergestellt am 19. Dezember (siehe für die Bereitungsweise der Käsegelatine unsere Abhandlung von 1901). Als die Kolonien deutlich ersichtlich waren, untersuchten wir 5 derselben unter dem Mikroskope, und da sie alle Stäbchenformen zu sehen gaben, legten wir von jeder eine Plattenkultur auf Käsegelatine an. Eine Kolonie der ersten Kulturplatte in Milch ge-

1) Bei der Beschreibung der folgenden Versuche sind nur diejenigen erwähnt worden, deren Kontrollkäse normal waren und in keinerlei Weise abwichen. Die Resultate der weniger gut geratenen, also diejenigen, wo die Kontrollkäse Aenderungen zu sehen gaben, haben wir hier ausfallen lassen, weil sie eher zu fehlerhaften Schlussfolgerungen führen konnten.

impft, brachte dieselbe innerhalb kurzer Zeit zur Gerinnung, und wir fanden bei der Untersuchung mit Molkengelatine eine große Masse von Diplokokken. Dies erklärt sich durch die große Zahl diplokokkenartiger Milchsäurefermente im Käse, welche auf die Käsegelatine geimpft wurden, ohne sich darauf zu entwickeln. Die Möglichkeit ist also sehr groß, daß unter verschiedenen Stäbchenkolonien einige Kokken liegen. In die Milch übergeführt, können diese letzteren sich schnell entwickeln und die oben genannte Erscheinung hervorrufen. Die zweite Plattenkultur gibt viel mehr Garantie für die Reinheit, und deshalb wurden davon 4 Kolonien in Kölbchen mit 40 ccm steriler Milch gebracht, welche erst nach 1 Woche gerann und stark sauer reagierte. Um jetzt zu sehen, ob vielleicht noch Diplokokken mitgegangen waren, wurden Molkengelatineplatten dieser Kulturen in Milch angelegt. Nur diejenigen Kölbchen mit Stäbchen kamen zur Verwendung, welche sich völlig frei von Kokken zeigten.

Der am 26. März hergestellte Kontrollkäse wurde am 28. Juni unverändert gefunden. Der Versuchskäse, geimpft mit der Stäbchenkultur I, ist zwar sauer geworden, aber nicht gereift.

Am 2. April 2 Käse von 26 l Milch gemacht. Der Kontrollkäse ist am 18. Juni unverändert, der Versuchskäse, geimpft mit der Stäbchenkultur II, ist dann sauer, aber nicht gereift.

5. April. Ebenfalls 2 Käse hergestellt von 29 l Milch. Der Kontrollkäse ist am 18. Juni gut, also unverändert, der Versuchskäse mit Stäbchenkultur III ist wiederum sauer, aber nicht gereift.

7. April. Gemacht von 28 l Milch 2 Käse. Der Kontrollkäse entspricht am 18. Juni den Anforderungen; der Versuchskäse, geimpft mit Kultur No. V, ist dann zwar sauer, aber nicht gereift.

Aus dieser Untersuchung geht hervor, daß die Stäbchenbakterien aus dem Käse an und für sich keine Reifung verursachen und nur eine Milchsäuregärung in dem Käse bewirken.

Die nächstfolgende Serie von Käse, welche hier Erwähnung finden muß, hatte zum Zweck, die kombinierte Wirkung echter Milchsäurefermente und Stäbchenbakterien auf die Käsereifung zu prüfen.

In der Weise der Isolierung machten wir aber eine Aenderung. Bisher waren alle Reinkulturen durch aërobe Kultivierung in der Voraussetzung erhalten, daß die Milchsäurebakterien und die Stäbchenbakterien im Käse zu den fakultativ anaëroben gehören. Es könnte aber doch sein, daß es Varietäten gäbe, welche besser beim Sauerstoffabschluß gediehen, ein Zustand, der ja übrigens mit den Verhältnissen im Käse mehr übereinstimmt. Die Kulturen für diesen Versuch wurden deshalb anaërob erhalten, wie die folgende Beschreibung zeigt:

17. Januar 1902. Gemacht 2 Käse, jeder aus 13 l Milch. Der Versuchskäse enthält 2 Varietäten, Milchsäurefermente und eine Stäbchenkultur, alle aus einem 4 Monate alten Käse stammend. Der Käse wurde absichtlich so alt ausgewählt, damit wir vorher wußten, daß die benutzten Bakterien längere Zeit im Käse leben konnten. Die Stäbchen sind anaërob in Käsegelatine kultiviert worden, zwischen zwei sterilen Glasplatten, von einander durch einen Gummiring getrennt. Aus der ersten Platte sind einige Kolonien übergeimpft in neue derartige Platten und die so erhaltenen Kolonien dienten zur Impfung von Kölbchen mit 40 ccm steriler Milch. Die Milchsäurebakterien sind in ähnlicher Weise isoliert worden, nur mit dem Unterschiede, daß anstatt Käsegelatine Molkengelatine zur Verwendung kam. Einige Tage vor dem 17. Januar sind die Kölbchen abermals mit Molkengelatine unter-

sucht und die Reinkulturen in Milch übergeimpft worden. Diese aëroben Kulturen in Milch wurden gebraucht.

Am 24. April war der Kontrollkäse vom 17. Januar unverändert, der Versuchskäse war zwar sauer, aber nicht gereift.

Am 27. Januar aus 27  $\frac{1}{2}$  l Milch 2 Käse gemacht. Der Versuchskäse enthält dieselben Varietäten Milchsäurefermente, aber eine andere Stäbchenkultur, wie der Käse vom 17. Januar. Reifung war am 24. April nicht zu konstatieren, nur ein saurer Geschmack. Der Kontrollkäse war nicht verändert.

Am 31. Januar. 2 Käse bereitet von 27 l Milch. Der Kontrollkäse bleibt unverändert; der Versuchskäse, geimpft mit einer Stäbchenkultur und 2 Milchsäurebakterienkulturen in 40 ccm Milch, ist am 24. April sauer, aber nicht gereift.

Diese Versuchsreihe zeigt also, daß auch die Kombination der gebrauchten Stäbchenkulturen und Milchsäurefermente nicht fähig ist, die Reifung hervorzurufen.

Es war uns aufgefallen, daß bei der Impfung von Käse in Käsegelatine außer den Stäbchen manchmal noch eine andere Bakterienart auftrat. Sie zeigte sich als kleine runde, gelbliche Kolonien mit scharfen Umrissen. Bei mikroskopischer Untersuchung taten sie sich auf als große Diplokokken. Das Wachstum dieses *Diplococcus* in Milch war gut. Auch mit dieser Bakterie sind Versuche angesetzt worden zur Bestimmung ihres Einflusses auf die Reifung, mit folgendem Resultate:

23. September 1902. Hergestellt 2 Käse aus 29 l Milch. Der Versuchskäse enthält 40 ccm Kultur eines Milchsäurefermentes, isoliert aus Käse mittels Molkengelatine; 40 ccm Reinkultur eines Stäbchens, isoliert aus Käse mittels Käsegelatine und 2  $\times$  40 ccm Reinkultur eines *Diplococcus* aus altem Käse, isoliert mittelst Käsegelatine. Am 6. Januar, also nach 3  $\frac{1}{2}$  Monaten, ist der Kontrollkäse unverändert, der Versuchskäse sauer, aber nicht gereift.

Am 26. September wurden aus 29 l Milch 2 Käse gemacht. Der Versuchskäse enthält genau dieselbe Impfung wie der Käse vom 23. September. Resultat am 6. Januar 1903: Kontrollkäse unverändert, Versuchskäse sauer geworden, aber nicht reif.

Am 13. November wurden wiederum 29 l Milch zu 2 Käsen verarbeitet. Der Versuchskäse bekam 40 ccm Reinkultur eines Milchsäurefermentes, 2  $\times$  40 ccm Reinkultur eines Stäbchens, isoliert aus 14-tägigem Käse mittels Käsegelatine und 2  $\times$  40 ccm Reinkultur von Diplokokken aus einem 10 Tage alten Käse, isoliert mittelst Käsegelatine. Am 24. Februar 1903 ist der Kontrollkäse nicht verändert, der Versuchskäse nicht gereift, aber sauer.

Am 10. Dezember von 30 l Milch 2 Käse gemacht. Der Versuchskäse enthält: 40 ccm Reinkultur eines Milchsäureferments, 2  $\times$  40 ccm Reinkultur eines Stäbchens aus 14 Tage altem Käse, 40 ccm Reinkultur eines *Diplococcus* aus einem 6 Wochen alten Käse. Am 24. Februar 1903 ist der Kontrollkäse unverändert geblieben, der Versuchskäse sauer, aber nicht gereift.

17. Dezember 2 Käse von 27 l Milch gemacht. Die Milch der Versuchskäse ist geimpft mit 2  $\times$  40 ccm Reinkultur eines Stäbchens in Milch aus 14-tägigem Käse, 40 ccm Reinkultur in Milch eines *Diplococcus* aus einem 6 Wochen alten Käse und 40 ccm Reinkultur eines *Diplococcus* aus 7 Monate altem Käse. Am 31. März 1903, also nach 3  $\frac{1}{2}$  Monaten, ist der Kontrollkäse unverändert, der Versuchskäse schmeckt sauer, aber nicht gereift.

24. Dezember. 2 Käse aus 30 l Milch bereitet. Der Versuchskäse

enthält 40 ccm Kultur eines Milchsäureferments,  $2 \times 40$  ccm Stäbchenkultur, 40 ccm Kultur eines *Diplococcus* aus einem 6 Wochen alten Käse und 40 ccm Kultur eines *Diplococcus* aus einem 7 Monate alten Käse. Am 31. März ist der Kontrollkäse unverändert, der Versuchskäse sauer geworden, aber nicht gereift.

Diese Versuchsreihe zeigt also, daß weder die Milchsäurefermente noch die Stäbchen oder die Diplokokken die Reifung verursachen können. Für diese Versuche war Käsegelatine gebraucht worden, welche hergestellt wurde aus 14 Tage altem Käse, wie früher schon mitgeteilt, indem zu der feingemahlenen Käsemasse das  $1\frac{1}{2}$ -fache Gewicht Wasser zugesetzt wurde, zusammen einige Zeit erhitzt und die so erhaltene Bouillon mit Gelatine versetzt. Eine derartige Gelatine weicht aber nicht unbedeutend von der Flüssigkeit ab, wie sie sich im Käse befindet. Die Konzentration aller Salze und Säuren, welche im Käse enthalten sind, wird in dieser Weise auf  $\frac{1}{4}$  reduziert, da der Wassergehalt des jungen Edamerkäses nicht weit von 50 Proz. entfernt liegt und die  $1\frac{1}{2}$ -fache Menge Wasser bei dem Käse also eine Verdünnung um das 4-fache bedeutet. Die Folge davon kann sein, daß Bakterien, welche in der verdünnten Käsebouillon zur Entfaltung kommen, in der ursprünglichen Flüssigkeit nicht mehr fortkommen. Es würden in dieser Weise Kolonien in der Kultur entstehen, deren Bakterien man im Käse nur in latentem Zustande antrifft und die Isolierung der Reifungserreger würde folglich ein bloßer Zufall sein, wenn es keine typischen Unterscheidungskennzeichen der Kolonien gibt. Zur Aufhebung dieser Inkonvenienz machten wir Käsegelatine mit konzentrierter Bouillon. Bei der Bereitungsweise stießen wir aber gleich auf einige Schwierigkeiten. So zeigte es sich bald, daß Kochsalz in der Käsebouillon das Festwerden der Gelatine bei  $\pm 25^{\circ}$  C unmöglich macht, und weiter darf die zur Verwendung kommende Gelatine nicht sauer reagieren. Einen guten Erfolg erhielten wir in folgender Weise: Ein 14 Tage alter Käse, welcher kein Salz erhalten hatte, wurde in Stücke zerschnitten, nach Entfernung der Rinde in einer Fleischhackmaschine gemahlen. Die also erhaltene Masse wurde gewogen und das  $1\frac{1}{2}$ -fache Gewicht destillierten Wassers zugesetzt, welche zusammen einen dicken Brei lieferten. Dieser wurde 2 Stunden bei  $40^{\circ}$  C gehalten zum Auslaugen der Käsemasse. Alsdann erhitzten wir unter fortwährendem Umrühren bis über  $50^{\circ}$  C.; die unlöslichen Substanzen bildeten einen großen Klumpen, welcher zu Boden sank. Die obenstehende Flüssigkeit gossen wir jetzt ab und ließen sie einige Stunden stehen; es bildete sich dann eine Schicht an der Oberfläche, welche hauptsächlich aus Fett und Eiweiß bestand. Nach Entfernung dieser Schicht wurde die Flüssigkeit abgemessen und im Vakuumapparat bei  $50^{\circ}$  eingedampft bis auf  $\frac{1}{4}$  des ursprünglichen Volumens. Diese Bouillon ähnelte in der Zusammensetzung möglichst der Flüssigkeit, wie sie in dem Käse sich vorfindet, bis auf den großen Kochsalzgehalt. Die Gelatine, welche in dieser Bouillon gelöst den Nährboden liefert, dürfte, wie gesagt, keine freie Säure enthalten. Es schien, als ob der Säuregrad der Bouillon, zusammen mit den löslichen Salzen, die Grenze bildete, innerhalb welcher die Gelatine noch gerinnt. Die freie Säure der Handelsgelatine brachte diese Grenze zum Ueberschreiten und mußte also neutralisiert werden. Zu diesem Zwecke machten wir eine 15-proz. Lösung guter Handelsgelatine in destilliertem Wasser und neutralisierten diese bis auf amphotere Reaktion. Die also behandelte Flüssigkeit wurde im Vakuum eingedampft bis auf Sirupdicke und diese Masse auf Glasplatten ausgegossen. Die festgewordene

Gelatine wurde von den Glasplatten genommen, in Streifen geschnitten, diese auf einen Bindfaden gehängt und an der Luft getrocknet. Die Käsegelatine wurde jetzt mit 10 Proz. dieser Gelatine in der konzentrierten Bouillon bereitet, worauf die Masse filtriert und sterilisiert wurde. Diese Bereitungsweise lieferte eine klare, gut gerinnende Gelatine, welche den gestellten Anforderungen entsprach. Mit dieser Gelatine wurden Kulturen aus Edamerkäse in Reagenzröhrchen in hoher Schicht angelegt, so daß die Verhältnisse, in welcher die Bakterien sich darin befanden, fast vollständig mit den natürlichen im Käse übereinstimmten. Nach etwa 14 Tagen, bei 22° C, entwickelten sich in dieser Gelatine normale Kolonien, welche, mit dem Mikroskop beobachtet, alle Stäbchen zu sehen gaben. In Milch übergeimpft, bringen sie diese innerhalb 14 Tagen zum Gerinnen. Mit verschiedenen der in dieser Weise isolierten Stäbchen wurden Versuche angesetzt; dabei folgten wir aber einer anderen Methode in der Kultur dieser Stäbchen in Milch. Bisher waren die zur Verwendung gekommenen Stäbchenkulturen immer aërob in Milch gezogen, indem wir zur Hälfte mit Milch aufgefüllte Kölbchen gebrauchten. Möglicherweise übt diese Methode einen ungünstigen Einfluß auf den weiteren Verlaufe des Versuches und zur Eliminierung des eventuellen Fehlers wurden Reinkulturen gemacht in hoher Gelatineschicht und diese vor dem Gebrauche vorsichtig geschmolzen, und dann direkt der aseptischen Milch für die Käsebereitung zugesetzt. Die Wachstumsbedingungen der Bakterien waren dann auch, was die Anaërobie anbelangt, bis zu dem Augenblick, wo die Milch damit infiziert wurde, in vollkommener Uebereinstimmung mit dem Zustande im Käse. Bis dahin stimmte die Menge der aseptischen Milch für einen Versuchskäse nicht überein mit der für einen Edamerkäse notwendigen Menge. Folglich vergärten die so erhaltenen Käse (Goudamodell) unter weniger günstigen Bedingungen, was die Austrocknung anbelangt. Weil nun ein mehr oder weniger hoher Gehalt an Feuchtigkeit Einfluß auf den Verlauf der Reifung ausübt, meinten wir, weiterhin Käse machen zu müssen, welche dieselbe Größe haben wie in der Praxis. Es versteht sich, daß die Herbeischaffung der dafür nötigen Menge aseptischer Milch einige Schwierigkeiten lieferte; allein diese zeigten sich nicht so groß, daß sie unüberwindlich waren. Durch den Milchreichtum der holländischen Kühe kamen wir immer mit 5–6 Kühen aus, obgleich bei dieser Melkmethode immer eine beträchtliche Menge durch die Kuh zurückgehalten wird. Der Verlauf dieses Versuches war der folgende:

21. Januar 1904. Gemacht aus 50 l Milch 2 Edamerkäse. Der Versuchskäse enthält: Ein Milchsäureferment, anaërob kultiviert mit Molkengelatine aus einem 10 Tage alten Käse, eine Stäbchenkultur aus 3 Monate altem Käse, anaërob isoliert mit Käsegelatine, und weiter gezogen in Käsegelatine. Weitere Zusätze zur Milch waren pro Käse 1,2 ccm Käsefarbe von Kerbert und 14 ccm Labpräparat, welches vorher durch eine Chamberland-Kerze filtriert und steril aufgefangen worden war. Am 6. Juni war der Kontrollkäse unverändert geblieben, während der Versuchskäse zwar sauer, aber nicht gereift war.

27. Januar. Hergestellt aus 50 l Milch 2 Käse. Die Impfung und Behandlung des Versuchskäses war genau dieselbe wie bei dem am 21. Januar bereiteten Käse. Am 6. Juni 1904 ist der Kontrollkäse gut, d. h. unverändert, der Versuchskäse sauer, aber nicht reif geworden.

26. Februar. 2 Käse bereitet aus 50 l Milch. Der Versuchskäse ist geimpft worden mit einem Milchsäurefermente, isoliert mittels Molkengelatine aus einem 14 Tage alten Käse und mit 2 Arten Stäbchen, an-

aërob isoliert mit Käsegelatine. Die zugesetzten Kulturen der Stäbchen sind in Käsegelatine gemacht worden. Am 6. Juni 1904 ist der Kontrollkäse unverändert, der Versuchskäse ist sauer geworden. Aber jede Reifung ist ausgeblieben.

Zu dieser Serie ist also die Reinkultur der Stäbchen in Käsegelatine immer gemacht worden. Die folgende Serie weicht nur insofern ab, daß die zugesetzten Stäbchen zwar mittels Käsegelatine isoliert worden, aber in Molkengelatine weiter gezogen sind.

13. April. Gemacht aus 50 l Milch 2 Käse. Der Versuchskäse enthält eine Stäbchenkultur in Molkengelatine, erhalten in der nachfolgenden Weise: Aus einem 4 Monate alten Käse wurde mit Käsegelatine eine Kultur angelegt. Nach 10 Tagen treten die Kolonien auf. Eine dieser wird wiederum in Käsegelatine gebracht und 10 Tage später wurde eine der dann aufgekommenen Kolonien in Molkengelatine (in tiefer Schicht) geimpft. Nach 3 Tagen zeigten sich darin Kolonien. Eine dieser ging wiederum in Käsegelatine; in derselben entstanden nach 7 Tagen Kolonien. Eine dieser impften wir in Molkengelatine und verwandten diese Kultur zur Impfung der Milch.

Am 20. Juli ist der Kontrollkäse unverändert geblieben, der Versuchskäse nicht gereift.

20. April. Gemacht aus 50 l Milch 2 Käse. Der Versuchskäse enthält ein Milchsäureferment in steriler Milch und eine Stäbchenkultur in Molkengelatine, beide dieselben wie im Käse vom 13. April. Am 20. Juli ist der Kontrollkäse unverändert, der Versuchskäse nicht gereift.

27. April. 2 Käse hergestellt aus 50 l Milch. Impfung dieselbe wie bei den vorigen. Am 20. Juli ist der Kontrollkäse gut, der Versuchskäse nicht gereift.

4. Mai. Gemacht 2 Käse aus 46 l Milch. Der Versuchskäse enthält eine Stäbchenkultur in Molkengelatine, dieselbe wie im Käse vom 13. April. Am 20. Juli ist der Kontrollkäse unverändert, der Versuchskäse nicht gereift.

18. Mai. Bereitet 2 Käse aus 46 l Milch. Der Versuchskäse enthält ein Milchsäureferment, 2 Stäbchen in Molkengelatine, welche während 2 Monaten in Molkengelatine übergeimpft worden waren. Am 20. Juli war der Kontrollkäse unverändert geblieben, der Versuchskäse nicht gereift.

Aus diesen beiden Versuchsserien geht also hervor, daß das Kultivieren stabförmiger Bakterien in tiefen Kulturen entweder in Käsegelatine oder in Molkengelatine keinerlei Einfluß hat auf die Reifung des Edamerkäses.

Bei einer folgenden Versuchsserie ist deshalb die vorige Impfungsmethode der Milch verlassen worden und die Käsegelatine zwar gebraucht zur Isolierung der Stäbchen, aber dieselben sind in steriler Milch überimpft worden.

28. September 1904. Gemacht aus 50 l Milch 2 Käse. Der Versuchskäse enthält  $2 \times 40$  ccm einer Reinkultur in Milch eines schwachen Milchsäurefermentes, isoliert mittels Molkengelatine aus einem 6 Tage alten Käse und weiter 6 Kölbchen Milch, welche mit Stäbchen geimpft worden waren, stammend aus verschiedenen Kolonien. Diese Kolonien waren aus einer Schicht erhalten, welche nur 1 ccm unter der Rinde eines 4 Monate alten Käses lag. Diese Schicht wurde gewählt, weil wir Bakterien wünschten, welche dem Salze unbedingt gut widerstehen könnten (siehe diesbezüglich unsere unten mitgeteilte Untersuchung über die Verbreitung des Salzes in dem Käse). Isoliert wurde in einer tiefen Schicht Käsegelatine und einige der nach 14 Tagen entstandenen Kolonien brachten wir wiederum in Käsegelatine. Darin entstanden Kolonien,



welche zur Impfung verschiedener Kölbchen dienten, welche vollständig mit steriler Milch aufgefüllt waren. Die Stäbchen brachten die Milch nach  $\pm 14$  Tagen zum Gerinnen. Am 22. Februar 1905 ist der Kontrollkäse unverändert geblieben, der Versuchskäse aber nicht gereift.

5. Oktober 1904. Aus 30 l Milch 2 Käse hergestellt. Der Versuchskäse enthält dieselben Kulturen, wie derjenige vom 28. September. Am 25. Februar 1905 ist der Kontrollkäse unverändert, der Versuchskäse nicht gereift.

12. Oktober. Gemacht von 50 l Milch 2 Käse. Impfung dieselbe wie am 28. September. Am 3. März ist der Kontrollkäse unverändert geblieben, der Versuchskäse nicht gereift.

19. Oktober. 2 Käse hergestellt aus 45 l Milch. Genau dieselbe Impfung wie am 28. September wird angewandt. Am 10. März ist der Kontrollkäse unverändert geblieben, der Versuchskäse nicht gereift.

26. Oktober. Wiederholung desselben Versuches wie am 28. September mit 45 l Milch. Der Versuchskäse ist am 24. März nicht gereift, der Kontrollkäse unverändert geblieben.

2. November. Wiederholung des Versuches vom 28. September mit 45 l Milch. Am 3. April 1905 war der Kontrollkäse unverändert, der Versuchskäse nicht gereift.

Aus allen diesen Versuchen folgt, daß es uns nicht gelang, mit in dieser Weise gezüchteten Milchsäurefermenten reifenden Käse zu erhalten. Das Unverndertbleiben der Kontrollkäse steht in vollkommenem Einklang mit unseren diesbezüglichen Publikationen im Jahre 1899 (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. p. 304) und wurde später bestätigt von v. Freudenreich (Weitere Beiträge zur Frage der Käsereifung. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1901).

### Das Salzen.

Großes Interesse für das Studium der Käsereifung hat die Weise, in welcher das Kochsalz, geschmackshalber zur Käsemasse zugesetzt, sich durch den Käse verbreitet. Gewöhnlich findet das Salzen nicht im Bruch, sondern von der Außenseite her statt, und jetzt ist die Frage: Dringt das Salz während des Aufenthalts des Käses im Labe sofort gleichmäßig durch oder konzentriert es sich in der Peripherie des Käses, um später allmählich sich in dem Käse zu verteilen? Im ersten Falle würden die Bakterien schon gleich der Einwirkung einer ziemlich starken Kochsalzlösung ausgesetzt werden, im anderen Falle würde die Entwicklung nach und nach eintreten. Obgleich dieser Unterschied auf dem ersten Gebiete wenig Bedeutung zu haben scheint, ist dies doch nicht der Fall. Es übt bestimmt großen Einflu auf die Entwicklung der Bakterien aus, mögen dieselben eine ihnen feindliche Substanz, wie das Kochsalz sofort in großer Menge antreffen oder nach und nach an größere Mengen gewöhnt werden. Zur Illustration dieser Behauptung sei auf die Lange wei (fadenziehende Molken) hingewiesen (Landbouwdkundig Tijdschrift. 1898. p. 153). Da wird mitgeteilt, daß während die „lange wei“-Bakterien in Reinkultur unter günstigen Umständen eine Menge Milchsäure produzieren können, gleich 10 ccm normal pro 100 ccm Nährflüssigkeit, dagegen ein Zusatz von 4 ccm normal Milchsäure zu 100 ccm Flüssigkeit vor der Impfung genügt, um jeder Entwicklung der „Lange wei“-Bakterien vorzubeugen. Hier haben wir also den Fall, daß die schädliche Substanz, in casu die Milchsäure, allmählich entstehend, einer 2 $\frac{1}{2}$ -fachen Menge, wie diejenige vertragen wird, welche nötig war, um durch einmaligen Zusatz jedem Wachstum zuvorzukommen.



Dringt das Salz sofort gleichmäßig durch, so würde ein ähnlicher Einfluß zu erwarten sein, während bei langsamer Diffusion dies nicht zu befürchten wäre. Zur Orientierung über die Verbreitungsweise des Kochsalzes im Käse untersuchten wir den Chlorgehalt in verschiedenen Schichten. Die Stärke jeder Schicht wurde so gewählt, daß jedesmal  $\frac{1}{3}$  des ganzen Käsegewichtes fortgenommen wurde. Feines Mahlen in einer Fleischhackmaschine und Durcheinandermischen folgte dann sogleich auf die Verteilung. In jeder Probe bestimmten wir die Trockensubstanz und den Chlorgehalt und berechneten damit die Konzentration des Kochsalzes im Wasser des Käses. Die Chlorbestimmung führten wir aus, indem meistens 4 g vorsichtig verkohlt wurden, die Kohle mit kochendem Wasser ausgelaugt und im Filtrat das Chlor als AgCl ausgefällt oder titrimetrisch bestimmt wurde.

Käse, frisch aus der Lake.			
	Trockensubstanz	Kochsalzkonzentration in der Käseflüssigkeit	
Außerste Schicht	61,6 Proz.	13,3 Proz.	
Mittlere „	54,0 „	4,0 „	
Innere „	52,0 „	0,4 „	
Käse $\pm$ 4 Wochen alt.			
Außerste Schicht	65,4 Proz.	5,0 Proz.	
Mittlere „	56,2 „	5,2 „	
Innere „	56,4 „	4,4 „	

Aus diesen Analysen geht deutlich hervor, daß beim Salzen die Außenschicht sehr stark Salz aufnimmt und sozusagen das Magazin bildet, welches nachher dem ganzen Käse gleichmäßig Salz liefert. Daß der Kochsalzgehalt bei dem 4 Wochen alten Käse in der äußeren Schicht etwas niedriger ist als in der mittleren Schicht, stammt daher, daß es Gewohnheit ist, die Käse nach etwa 3 Wochen, wenn sich eine starke Hefe- und Schimmelvegetation auf der Rinde abgesetzt hat, längere Zeit in Wasser zu legen (sogenanntes Wateren) und mit Kalkmilch zu reinigen. Bei dieser Manipulation werden selbstverständlich verschiedene lösliche Stoffe aus der Rinde ausgewaschen. Der Einfluß des Salzes auf die Reifung muß sich aber gleich in der Außenschicht des Käses in hohem Grade äußern, weniger in dem Mittelteil und erst allmählich im Innern.

Beachten wir nun, daß die Reifung durch die ganze Käsемasse gleichmäßig verläuft, und in dem Augenblick, wo der Käse noch im Anfangsstadium des Reifens ist, schon eine beträchtliche Salzmenge sich durch den Käse verbreitet hat, so muß ja der Mikroorganismus, welcher die Reifung verursacht, einen plötzlichen ziemlich hohen Kochsalzgehalt vertragen können.

Den verschiedenen Bedingungen, welche das Wachstum dieses Organismus beeinflussen, kann also auch diese zugefügt werden. In dieser Hinsicht weicht aber die von uns benutzte Käsegelatine von dem ursprünglichen Nährboden ab, denn, wie schon mitgeteilt, wurde die Käsebouillon aus nicht gesalzenem Käse hergestellt und enthielt also nur diejenige Menge von Chloriden, welche sich in der darin gebliebenen Molke befanden. In welchem Grade diese Abweichung auf die Untersuchung einen Einfluß übt, werden weitere Versuche zeigen <sup>1)</sup>.

### Die Milchsäure.

Die Bildung der Milchsäure aus Milchzucker durch die echten Milchsäurebakterien fängt bekanntlich in dem Käse schon früh an. Bei der

1) Der Käse vom 28. September 1904 enthielt Stäbchen, isoliert aus einer Schicht 1 cm unter der Rinde. Nach der Analyse enthielt diese Schicht sehr viel Kochsalz, und trotzdem blieben aber die Bakterien am Leben, obgleich das Leben latent sein kann.

Verwendung eines „Säureweckers“ ist der ganze Milchzucker schon nach 1 Tage verschwunden und ist also das Maximum der Säurebildung erreicht. Diese Säure kommt aber nicht frei in der Käsemasse vor, weil durch die Einwirkung verschiedener Bestandteile des Bruches Umsetzungen stattfinden. Die frische Käsemasse kann als eine Bindung von Calciumkaseinat an ein unlösliches Calciumphosphat betrachtet werden, in welcher die Molke mit den in Milch löslichen Salzen aufgesogen vorkommt. Das Calciumkaseinat wird bald umgesetzt in freies Kasein und milchsaures Calcium. Weil aber Kasein nicht wasserlöslich ist, findet man bei der üblichen Bestimmung der Säure im Käse diese Säuremenge des Kaseins nicht wieder. Eine Menge Milchsäure, äquivalent der entstandenen Masse freien Kaseins, wird dem Totalsäuregrad entzogen, also vollständig neutralisiert. Dies ist aber nicht der Fall bei der Einwirkung der entstehenden Milchsäure auf die löslichen Salze, an erster Stelle die Phosphate. Diese kommen vor als neutrale und saure Salze, welche durch die Aufnahme von Milchsäure in einfachsaure und mehrfachsaure Salze umgesetzt werden. Die Milchsäure wird also an die Basen gebunden, aber dafür entstehen äquivalente Mengen saurer Salze. Daß derartige Einwirkungen eintreten können, geht hervor aus der Bestimmung des Gehaltes an freier Milchsäure im Käse. Zu diesem Zwecke wurde ein Käse in dünne Scheiben geschnitten und diese an der Luft getrocknet. Nachdem die Scheiben hart und spröde, also möglichst trocken waren, gingen sie durch die Fleischhackmaschine und wurden darauf 3mal mit Aceton extrahiert. Aether zeigte sich bei der vorläufigen Untersuchung als ungeeignet, infolge der Esterbildung mit Milchsäure, was mit Aceton nicht passierte. Aceton dagegen hat den Mangel, sehr leicht Wasser aufzunehmen, und folglich auch die wasserlöslichen Verbindungen, daher ist ein vorheriges Austrocknen des Käses notwendig. Die verschiedenen Extraktionen wurden gesammelt und das Aceton abdestilliert. Der Rückstand, welcher die Milchsäure und löslichen Salze enthielt, bestand hauptsächlich aus Fett mit ein wenig Wasser. Dieser Rückstand wurde wiederholt mit Wasser im Scheidetrichter ausgeschüttelt und das Wasser vom Fett getrennt. Das wässrige Extrakt, mit  $\frac{1}{10}$  n-Lauge neutralisiert, wurde bis annähernd zum Trocknen eingedampft, mit Schwefelsäure angesäuert und mit säurefreiem Aether schnell ausgeschüttelt. Beim Aetherextrakt wurde das gleiche Volumen Alkohol zugesetzt und die Masse als solche titriert. Die zum Neutralisieren von 900 g Käse nötige Menge betrug 87 ccm  $\frac{1}{10}$  Normallauge, entsprechend 0,087 Proz. Milchsäure. Obwohl diese Quantität nicht als eine quantitative Bestimmung zu beachten ist (es zeigte sich doch, daß nach 3maligem Extrahieren nicht alle Milchsäure in Lösung aufgegangen war), so folgt doch hieraus im Vergleich mit der aus dem vorhandenen Milchzucker zu bildenden Milchsäure, daß ein großer Teil durch chemische Umsetzungen festgelegt worden ist. Da aber die totale in Wasser lösliche Säuremenge nach früher mitgeteilten Untersuchungen pro 5 g Käse 7 ccm  $\frac{1}{10}$  normal beträgt, welche Zahl auch hier bestätigt wurde, so geht hieraus hervor, daß der Säuregrad des Käses hauptsächlich von den sauren Salzen bedingt wird, und daß die hiermit äquivalente Menge Milchsäure an Basen gebunden wird, hauptsächlich an Calcium, wie bei kurzer Betrachtung einleuchtet. Die unlöslichen Metallverbindungen, welche in der Milch vorkommen, sind Calciumkaseinat und Calciumphosphat, während die löslichen aus Calcium, Magnesium, Kalium und Natrium bestehen, gebunden an Phosphorsäure, Chlor und Citronensäure. Bei dem Gerinnen mit Lab werden

eben die unlöslichen Salze gesammelt, während die Menge der löslichen Salze bestimmt wird durch die Menge Molken, welche noch im Käse zurückbleibt. Zur Bereitung eines Edamerkäses braucht man durchschnittlich 22 l Milch, deren unlösliche Calciumverbindungen fast quantitativ in den Käse übergehen. Nach unseren früheren Versuchen (Beitrag zur Kenntnis der Labgerinnung. Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen. 1901. p. 221) beträgt der unlösliche Kalkgehalt unter anderem 0,1266 g CaO pro 100 ccm Milch, der lösliche Kalkgehalt 0,0422 g CaO pro 100 ccm. In diesem Falle würde der Bruch enthalten:  $220 \times 0,1266$  g CaO = 27,85 g CaO, während die Menge löslicher Kalksalze bei einem Gehalte von 50 Proz. Wasser des jungen Käses in 2 kg Käse  $10 \times 0,0421$  g = 0,422 g CaO beträgt. Wendet man dieselben Rechnungen bei den übrigen löslichen Metallen, K, Na und Mg, an, welche als Oxyde berechnet, pro 100 ccm Milch in folgenden Quantitäten vorkommen, 0,117 g resp. 0,024 g und 0,013 g, im ganzen 0,154 g, so wird gefunden, daß ein Edamerkäse 1,54 g dieser Oxyde enthält, also mit dem Calcium 1,96 g. Die Möglichkeit der Bindung dieser Oxyde mit Milchsäure hängt zusammen mit der Bindung, in welcher sie in der Milch auftreten. Für die größte Menge des Kaliums und des Natriums ist dies bestimmt nicht der Fall, da diese beiden auch in Form von Chloriden auftreten und also keine Umsetzungen geben. In der Hauptsache dienen folglich die unlöslichen Kalksalze zur Bindung der Milchsäure.

Es gibt aber noch einen zweiten Beweis für die Bindung der Milchsäure, außer der Differenz zwischen der Menge gebildeter Milchsäure und der gefundenen freien Milchsäure. Wenn ein 2 Monate alter Käse durchgeschnitten wird, so findet man darin kleine Höhlungen, entstanden bei der Bereitung, weil nicht alle Bruchteilchen zusammenschlossen, welche mit dem Auge deutlich wahrnehmbare Körnchen enthalten. Je älter der Käse, um so mehr nehmen die Körnchen an Größe zu, und im alten Käse erreichen sie manchmal einen Durchmesser von  $\frac{3}{4}$  mm. Diese Körnchen bestehen, unter dem Mikroskop betrachtet, aus einem Konglomerat feiner Nadeln, welche genau wie Kristalle milchsauren Calciums aussehen. Weiterhin kann man darin in bekannter Weise Milchsäure und Calcium nachweisen. Derartige Körnchen trifft man auch ab und zu in Käsege latine an. Gleich wie im Käse, nehmen sie an Größe zu und überschreiten zuweilen den Durchmesser von 2 mm.

Der unlösliche Kalkgehalt ist, wie gesagt, hinsichtlich des Verlaufes der Käsereifung von großer Bedeutung. Dieser bestimmt ja hauptsächlich die Umsetzungen, welche stattfinden werden, wie groß die Menge der Milchsäure ist, welche gebunden wird, und welchen Säuregrad die Käsemasse besitzen wird nach Verlauf der Reaktionen; er ist also ein Hauptfaktor für die Käsereifung.

Außer den großen Kristallkonglomeraten findet man im Edamerkäse noch ganz kleine Anhäufungen von Kristallen, welche nur bei ziemlich starker Vergrößerung ( $\pm$  500-fach) deutlich sichtbar werden. Die Außenwand wird gebildet durch eine unregelmäßige Kugelfläche, welche den Eindruck macht, als ob verschiedene Kugelsegmente dachziegelähnlich übereinander liegen. Von der Außenseite heraus gehen nach der Mitte, welche von einer Höhle gebildet wird, kleine radiusähnlich angeordnete Nadel. Diese Kristalle bestehen nicht aus milchsaurem Calcium, sondern aus einer Verbindung von Calcium und Phosphorsäure, was folgenderweise nachgewiesen werden kann:

Man kocht die Käsemasse mit verdünnter Lauge zur schleimigen

Aufweichung des Kaseins, setzt destilliertes Wasser zu und läßt es absetzen. Die Kristallkonglomerate (Sphaerite) sammeln sich am Boden des Reagenzröhrchens. Durch wiederholtes Abgießen der Flüssigkeit und Ersetzen durch frisches Wasser erhält man die Kristalle in reinem Zustande. Erhitzt man jetzt eine geringe Menge vorsichtig auf einem Stückchen Platinblech über einer kleinen Gasflamme, so zeigt sich unter dem Mikroskop, daß die Struktur der Konglomerate keine Aenderung erlitten hat. Dies schließt jede organische Struktur der Kristalle aus. Mit den gebräuchlichen Reagentien können jetzt aber Kolonien und Phosphorsäure nachgewiesen werden, woraus hervorgeht, daß die Kristalle aus irgend einer Calciumverbindung der Phosphorsäure bestehen müssen.

#### Flüchtige Fettsäuren.

Die Abhandlung Orla Jensens, Biologische Studien über den Käsereifungsprozeß unter spezieller Berücksichtigung der flüchtigen Fettsäuren (Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz. 1904), gab Veranlassung zu einigen Untersuchungen über den Gehalt des Edamerkäses an Ammoniak und flüchtigen Fettsäuren. Zur Bestimmung der totalen Menge flüchtiger Fettsäuren folgten wir der Vorschrift Orla Jensens. Ein Käse wurde entrinde und in einer Fleischhackmaschine fein gemahlen. 100 g der tüchtig gemischten Käsemasse wurden nach Zusatz von 200 ccm gekochten Wassers und 1,5—2 ccm konzentrierter Schwefelsäure mit Dampf abdestilliert, bis 1 l übergegangen war. Das auf diese Weise erhaltene Destillat wird mit  $\frac{1}{10}$  n-Baryt titriert. Die Menge flüchtiger Fettsäuren, welche also in einem 6 Monate alten Käse bestimmt wurde, stimmt überein mit derjenigen, welche Orla Jensen angibt, d. h.  $\pm 156$  ccm  $\frac{1}{10}$  n pro 1000 g Käse. Abweichend aber von seinem Befunde, fanden wir keine Ameisensäure, dagegen wohl Kapronsäure in einer Quantität von 0,075 g pro 1000 g Käse. In Edamerkäse, welcher 7 Tage alt war, fand sich aber eine gleichgroße Menge flüchtiger Fettsäuren, wie im alten Käse, Kapronsäure fehlte aber.

Hieraus folgt, daß von einer Zunahme der flüchtigen Fettsäuren nicht die Rede sein kann; nur ein qualitativer Unterschied konnte nachgewiesen werden. Der Ammoniakgehalt wurde nicht bestimmt durch Destillation mit  $\text{CaCO}_3$  oder  $\text{BaCO}_3$ , sondern in der nachfolgenden Weise, einer Modifikation der Krüger-Reichschen Methode: 5 g Käse wurden mit 0,5 g NaOH + etwa 50 g Wasser im Vakuum destilliert, so daß die Flüssigkeit unter  $60^\circ \text{C}$  kochte. Die Dämpfe wurden in einem Liebig'schen Kühler konzentriert und in einem Kölbchen für fraktionierte Destillation aufgefangen, welches eine genügende  $\frac{1}{10}$ -Normalschwefelsäure enthielt. Mit dem Seitenansatz des Kölbchens wurde der Vakuumschlauch verbunden. Also ging nur der Ammoniak über. Nach dieser Bestimmungsmethode fanden wir in 1000 g eines 6 Monate alten Käses 0,272 g Ammoniak, eine Quantität, welche mit der von Jensen gefundenen Menge (0,255 g  $\text{NH}_3$  pro 1000 g Käse) übereinstimmt. In 10 Tage altem Käse war aber der Ammoniakgehalt bedeutend höher. Darin fanden wir 0,646 g und sogar 0,781 g  $\text{NH}_3$  pro 1000 g. Hieraus geht hervor, daß der Ammoniakgehalt in dem Edamerkäse während der Reifung zurückgeht.

## Eine neue Pilzkrankheit der Syringen.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von **H. Klebahn** in Hamburg.

Die Fröhrtreiberei der Syringen erleidet starke Schädigung durch eine von botanischer Seite bisher nicht beachtete Krankheit. Dieselbe hat ihren Sitz wesentlich in der Rinde, die sie braun färbt und tötet, und zwar je nach der Sorte an den unteren Teilen der Stämme oder mehr an den Spitzen und in den Zweigen. Infolge der Krankheit entwickeln sich die Blütenknospen entweder überhaupt nicht oder sie verkümmern bald nach dem Austreiben.

In den Interzellularräumen der kranken Rinde findet sich ein Pilz, dessen dicke, plasmareiche, mit spärlichen aber charakteristischen Querwänden versehene Hyphen bis an die Grenzen der Braunfärbung vordringen. Der Pilz bildet Dauersporen, im Gewebe der Rinde in den Interzellularen, in den Knospen auch zwischen den Blatt- und Blütenanlagen. Die Sporen sind rund oder oval, 18–28  $\mu$  dick und haben eine dicke, glatte, farblose oder schwach gelbliche Membran. Sie liegen innerhalb einer zweiten, zarten, meist etwas abstehenden Membran, welcher außen eine kleinere, leere Zelle flach ansitzt. Mitunter hat die Sporenmembran eine röhrenförmige Einstülpung nach innen, die, wenn sie vorhanden ist, stets da liegt, wo die kleinere Zelle außen ansitzt. Diese Strukturen erinnern an die Oosporen, Oogonien und Antheridien der Peronosporaceen. Peronospora-artige Konidienträger wurden jedoch nicht gefunden.

Da die Sporen nicht keimend beobachtet wurden, und da sie nur einzeln und mit Mühe freipräpariert werden können, war es nicht möglich, Infektionsversuche mit denselben auszuführen und Reinkulturen daraus zu erziehen. Es gelang aber, die Krankheit und den Pilz auf gesunde Pflanzen zu übertragen, wenn Teile kranker Rinde in Schnittwunden gesunder Rinde eingefügt wurden. Die verschiedenen Konidien, die beim Feuchthalten erkrankter Zweige auf der Rinde entstanden, riefen keine Infektionen hervor und brachten bei der Aussaat auf künstlichen Nährboden fremdartige Mycelien. Nach zahlreichen vergeblichen Versuchen wurden zuletzt in mehreren Fällen Reinkulturen des Pilzes erhalten, und zwar teils aus abgelösten Rindenstückchen, teils aus dem Luftmycel, das an feuchtgehaltenen kranken Zweigen gelegentlich aus den Lenticellen hervorst. Mit Hilfe der Reinkulturen wurden folgende Beobachtungen gemacht:

1) In den Hyphen findet mitunter auf weite Strecken hin eine sehr lebhaftc Protoplasmaströmung statt. Die schon oben erwähnten Querwände bilden dabei kein Hindernis; sie sind daher keine echten Scheidewände, sondern offene Ringe. Damit fällt das Bedenken, welches aus dem Vorhandensein von Querwänden gegen die Phycomycetennatur des Pilzes hergeleitet werden könnte.

2) Es werden auch in der Reinkultur Oogonien und Antheridien gebildet. Die Antheridien entstehen als Anschwellungen von Seitenzweigen, welche auf die Oogonien loswachsen, in der Regel in Mehrzahl. Der Antheridieninhalt wird entleert, wahrscheinlich in das Oogonium. Die Sporenmembran wird erst nach der Entleerung ausgebildet. Es scheint übrigens, als ob die Sexualorgane in der Reinkultur leicht degenerieren.

3) Nach dem Aufbringen von Teilen einer Agarreinkultur auf frische Wunden gesunder Zweige starben diese unter der charakteristischen

Braunfärbung der Rinde ab, und es waren Oosporen in dem erkrankten Gewebe nachweisbar.

Die vorliegenden Erfahrungen weisen dem Pilz seinen Platz in der Verwandtschaft der Peronosporaceen an. Er unterscheidet sich jedoch dadurch, daß die Konidienbildung entweder ganz fehlt oder unter den gewöhnlichen Umständen nicht eintritt, und er ist daher jedenfalls als Vertreter einer besonderen Gattung anzusehen. Auch das Vorkommen in der Rinde einer holzigen Pflanze weist ihm eine Sonderstellung an. Ich schlage vor, den Pilz als *Phloeophthora Syringae* zu bezeichnen (von *φλοιός* Baumrinde und *φθορά* Verderben).

Ueber die Frage, wie der Pilz in der Natur oder in der gärtnerischen Kultur die Syringen infiziert, ist es noch nicht gelungen, ein Urteil zu gewinnen. Der anfangs vermutete Zusammenhang mit einer sommerlichen Blattkrankheit ließ sich nicht beweisen und ist mir jetzt auch unwahrscheinlich. Zu der von Sorauer (1891) zuerst beschriebenen, später von Ritzema Bos, Beijerinck und van Hall (1902) bearbeiteten Bakterienkrankheit der Syringen sind keine Beziehungen vorhanden. Als Gegenmaßregel kann gegenwärtig nur das sorgfältige Ausschneiden und Verbrennen aller erkrankten Zweige empfohlen werden.

Eine genauere, mit Abbildungen versehene Beschreibung der Krankheit und des Pilzes wird später veröffentlicht werden.

Nachdruck verboten.

## Zusammenhänge von Ascomyceten mit Fungis imperfectis.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von H. Klebahn in Hamburg.

1) Der in der Literatur bereits mehrfach vermutungsweise angegebene Zusammenhang zwischen *Gnomonia leptostyla* (Fries) Ces. et de Not. und *Marssonina Juglandis* (Lib.) Sacc. wurde durch Infektionsversuche mittels der Ascosporen und durch Reinkulturen bewiesen.

2) Der Zusammenhang von *Gnomoniella tubiformis* (Tode) Sacc. mit *Leptothyrium alneum* (Lév.) Sacc. wurde durch Infektionsversuche mittels der Ascosporen bewiesen. *Alnus glutinosa* wurde reichlich, *Alnus incana* schwächer infiziert.

3) Der Zusammenhang von *Mycosphaerella sentina* (Fries) Schröter und *Septoria nigerrima* Fuck. wurde durch Infektionsversuche mit den Ascosporen und durch Reinkulturen gezeigt.

4) *Gloeosporium Ribis* (Lib.) Mont. et Desm. steht mit einem noch unbeschriebenen Discomyceten in Zusammenhang, der nach der Bestimmung durch Herrn Medizinalrat Dr. H. Rehm der Gattung *Pseudopeziza* am nächsten steht und als *Pseudopeziza Ribis* bis auf weiteres bezeichnet sein mag. Die Apothecien durchbrechen die Epidermis der überwinterten Blätter, sie haben einen kurzen, dicken Stiel und sind oben flach und ca. 230  $\mu$  breit. Die Asci sind keulenförmig, 80–110  $\mu$  lang, 18–20  $\mu$  dick, die Sporen oval, 12–17:7–8  $\mu$ , die Paraphysen fadenförmig, gabelig geteilt, oben kaum verdickt. Jod bläut den Schlauchporus. Der Zusammenhang wurde durch Infektionsversuche und durch Reinkulturen bewiesen. Eine gleichzeitig gefundene *Pleospora* hat keine Beziehung zu dem *Gloeosporium*. Empfänglich gegen den Pilz sind *Ribes rubrum* und *aureum*, unempfindlich *Ribes nigrum*, *alpinum*, *Grossularia* und *sanguineum*.

Die Einzelheiten dieser Untersuchungen werden später veröffentlicht werden.

*Nachdruck verboten.*

# Apparat für die Kultur von anaëroben Bakterien und für die Bestimmung der Sauerstoffminima für Keimung, Wachstum und Sporenbildung der Bakterienspecies.

Von Prof. Dr. Arthur Meyer in Marburg.

Mit 8 Figuren.

In meinem Praktikum der botanischen Bakterienkunde (Jena, Gustav Fischer, 1903) habe ich auf p. 148—151 auch eine Anleitung zur Kultur der Anaëroben im Exsikkator gegeben. Zur Ergänzung der dort gemachten Angaben möchte ich in dem Folgenden eine eingehendere Beschreibung derjenigen Apparate mitteilen, welche ich jetzt zur Züchtung von Anaëroben benutzen lasse, und welche zugleich auch zur Bestimmung der Minima der Sauerstoffkonzentration sehr geeignet sind.

Die Minima der Sauerstoffkonzentration für Sporenkeimung, Sporenbildung und für Wachstum der Oidien sind ganz vortreffliche Speciesmerkmale und müssen deshalb noch für viele Bakterienspecies, zum Ausbau der Bakteriensystematik, bestimmt werden. Der Apparat kann, wie gesagt, dazu gute Dienste leisten.

Die Reinzüchtung von sehr sauerstoffempfindlichen Species gelingt mit dem Apparat vortrefflich, während sie nach anderen Methoden allerhand Schwierigkeiten macht. Ich denke deshalb, daß diese Notiz auch für den gewiegten Bakteriologen einiges Interesse haben wird. Die Beschreibung ist etwas breit gehalten; es geschah deshalb, weil diese Notiz eben als eine Ergänzung zum Praktikum für Bakterienkunde dienen und auch dem Anfänger die Möglichkeit geben soll, nach dem hier Gesagten zu arbeiten.

Der Apparat besteht aus 3 Stücken: 1) der Luftpumpe, 2) dem Kulturvakuum, 3) dem Kulturmanometer.

## Die Luftpumpe.

Mit der „Münchner Wasserstrahlpumpe mit Hemmung“, die von Dr. Bender & Dr. Hobein in München für 5 M. bezogen werden kann, läßt sich bei gutem Wasserdruck ungefähr ein feuchtes Vakuum mit 22 mm Druck bei 21° C (0,7 mg Sauerstoff im Liter enthaltend) sofort erhalten. Will man nicht messen, sondern nur ein möglichst luftfreies Vakuum erzeugen, so kann man durch längeres Auspumpen bei ca. 40° mit dieser Pumpe sehr weit in Bezug auf die Wegnahme des Sauerstoffs kommen.

Eine größere Verdünnung liefert direkt und schnell, was besonders für die Bestimmung der Minima der Sauerstoffkonzentration von Bedeutung ist, die Geryk-Luftpumpe (Fleuss' Patent) von Arthur Pfeiffer in Wetzlar. Ich benutze die 2-stiefelige Reihpumpe (Duplex A), die in Fig. 1 abgebildet ist.

Die Pumpe ist mit einem Schwungrade versehen und für Handbetrieb eingerichtet. Zuerst mag die Einrichtung des Pumpencylinders an der Hand der Fig. 2 beschrieben werden.

In der Figur bedeutet *L* einen Rohrstutzen zum Einfüllen des Oeles, *A* das Saugrohr, *B* das Luftloch im Cylinder, *C* eine Lederliderung, die dem Cylinder lose anliegt und durch den Druck des Oeles, welches sich im Cylinder und in dem ringförmigen Raume *D* befindet, an der Cylinder-



wand hochgehalten wird. *E* ist das Kolbenventil, welches sich nur beim Beginn des Auspumpens bewegt und ganz untätig bleibt, wenn eine Verdünnung von etwa 13 mm erreicht ist. *F* ist ein Saugrohr zum Entlasten des Kolbens bei den ersten paar Huben, *G* eine Hülse, durch welche die Kolbenstange frei hindurchgeht, *J* eine Liderung zum Abdichten der Kolbenstange, deren Flantsche die Hälfte *G* bedeckt und so mit dem Deckel *H* einen reibungslosen Ersatz für eine Stopfbüchse und zugleich ein Auslaßventil bildet.

Befindet sich der Kolben an dem unteren Ende seines Hubes, so ist die Verbindung zwischen dem Saugrohr *A* und dem Cylinder durch

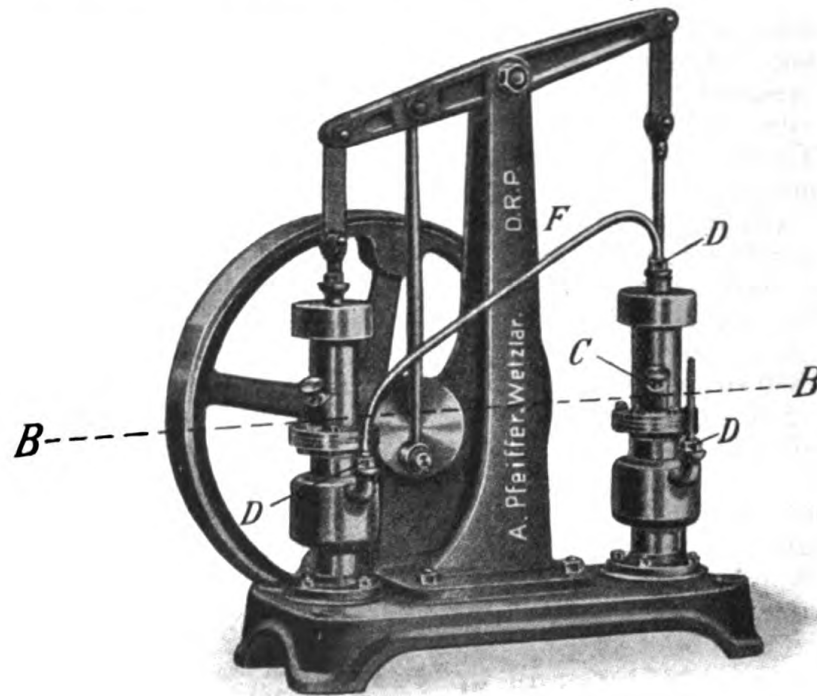


Fig. 1. Abbildung der Geryk-Luftpumpe von Arthur Pfeiffer in Wetzlar.

die Oeffnung *B* vollständig frei. Steht der Kolben aufwärts, so wird diese Verbindung abgeschnitten und die Luft über dem Kolben zu dem Auslaßventil *G* emporgetrieben. Da eine Oelschicht, die höher als 13 mm ist, den Kolben bedeckt, kann keine Luft unter ihn zurückdrängen. Beim Hinaufgehen des Kolbens nimmt die Spannung der abgeschnittenen Luft zu, drückt die Lederliderung fest gegen die Cylinderwand und verhindert so, daß das Oel während des Kolbenaufganges unter den Kolben tritt. Sollte doch etwas Oel unter den Kolben gelangen, so dringt es, sobald dieser das untere Ende seines Hubes erreicht hat, durch das Ventil *E* wieder nach der Oberseite. Kommt der Kolben an das obere Ende seines Hubes, so drückt er gegen das Ventil *G* und hebt es 6,5 mm in die Höhe, so daß die Luft austreten kann. Ueber dem Kolben steht soviel Oel, daß eine beträchtliche Menge davon durch das Ventil *G* gedrückt wird und dabei alle Luft vor sich her treibt. Solange der Kolben am oberen Ende seines Hubes steht, kann sich das Ventil nicht schließen und es fließen daher die Oelmengen *J* und *K* zu einer einzigen Masse zusammen, so daß, obgleich das



Ventil vollständig offen ist, keine Luft zurück kann. Das Ventil *G* kann sich erst wieder schließen, wenn der Kolben um 6,5 mm abwärts gegangen und demgemäß eine 6,5 mm hohe Schicht Oel in den Cylinder zurückgeflossen ist. Diese Schicht wird bei dem nächsten Aufgange wieder durch das Auslaßventil hindurchgedrückt.

Das verwendete Oel ist nur von Pfeiffer zu beziehen. Es besitzt eine sehr geringe Dampfspannung.

Beide Pumpenstiefel müssen stets bis zum Punkte *L* (Fig. 2) gefüllt sein und man muß dann noch etwas Oel auf die Einfuhrschrauben *C* (Fig. 1) zur Dichtung aufgießen. Will man die richtige Füllung der Pumpe bewirken, so dreht man das Schwungrad der Pumpe zuerst langsam ungefähr 10mal um, dreht es dann so, daß der Kolben des einen Cylinders seinen tiefsten Standpunkt hat, öffnet die Schraube *C* (Fig. 1), füllt Oel bis zum Ueberlaufen ein und schließt die Schraube gut. Nun dreht man den Kolben des anderen Stiefels bis zum tiefsten Stand, füllt ebenfalls Oel bis zum Ueberlaufen ein und schließt auch diese Schraube. Man dreht nun das Schwungrad wieder 10mal um und wiederholt das Einfüllen von Oel in beide Zylinder noch einmal, eventuell noch ein drittes Mal, so lange also, bis in beiden Cylindern bei tiefstem Stande des Kolbens das Oel beim Oeffnen der Schraube *C* (Fig. 1) fast austritt. Wenn das Oel in nötiger Menge einmal in der Pumpe ist, so genügt es für alle Zeiten. Man füllt zuletzt etwas Oel über die Schraube *C* und dann auch in alle übrigen Oelpfannen, z. B. *D*, *D'* der Pumpe, so daß alle Verschraubungen durch das Oel gedichtet sind; zugleich ölt man alle Schmierlöcher und füllt die kleine Kanne auf der Achse des Schwungrades. Die Pumpe wird übrigens mit Oel gefüllt geliefert; diese Instruktion ist also nur für den Fall gegeben, daß etwas Oel beim Transport ausgelaufen sein sollte, was man, bei richtiger Stellung des betreffenden Kolbens, beim Oeffnen der Schraube *C* (Fig. 1) erkennen kann. Das Füllen der Oelpfanne und das Schmieren muß aber beim Empfang der Pumpe stets vorgenommen werden.

Die Schrauben, vorzüglich die am oberen wagrechten Balken, müssen alle gut angezogen werden. Es ist ein Schraubenschlüssel für die Schrauben am oberen Balken bei der Bestellung der Pumpe mit zu verlangen.

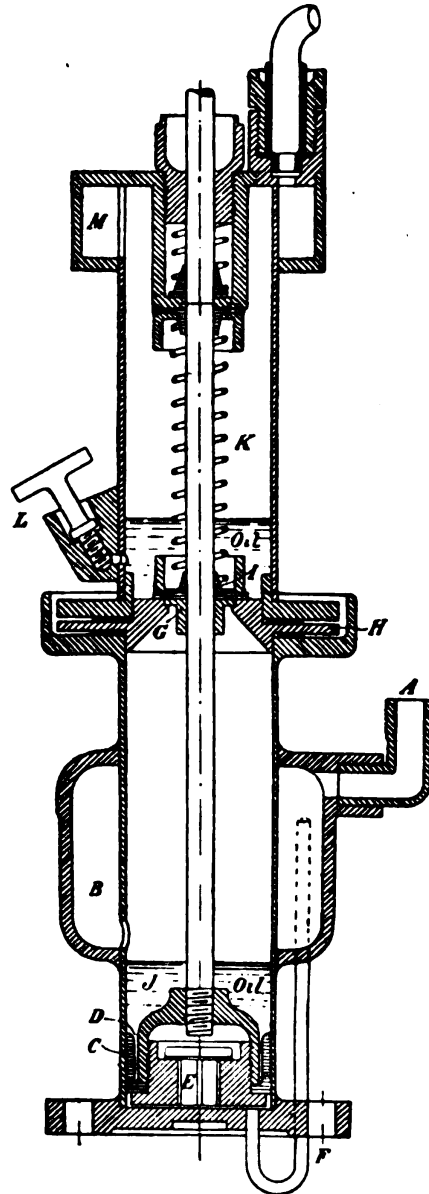


Fig. 2. Längsschnitt durch den Pumpencylinder.  $\frac{1}{4}$  natürl. Größe.

Bei Benutzung der Pumpe darf das Schwungrad nur langsam gedreht werden. Es darf nicht mehr als 33 Touren in der Minute machen, da bei Ueberschreitung dieser Geschwindigkeit die höchste Leistung der Pumpe nicht erreicht wird.

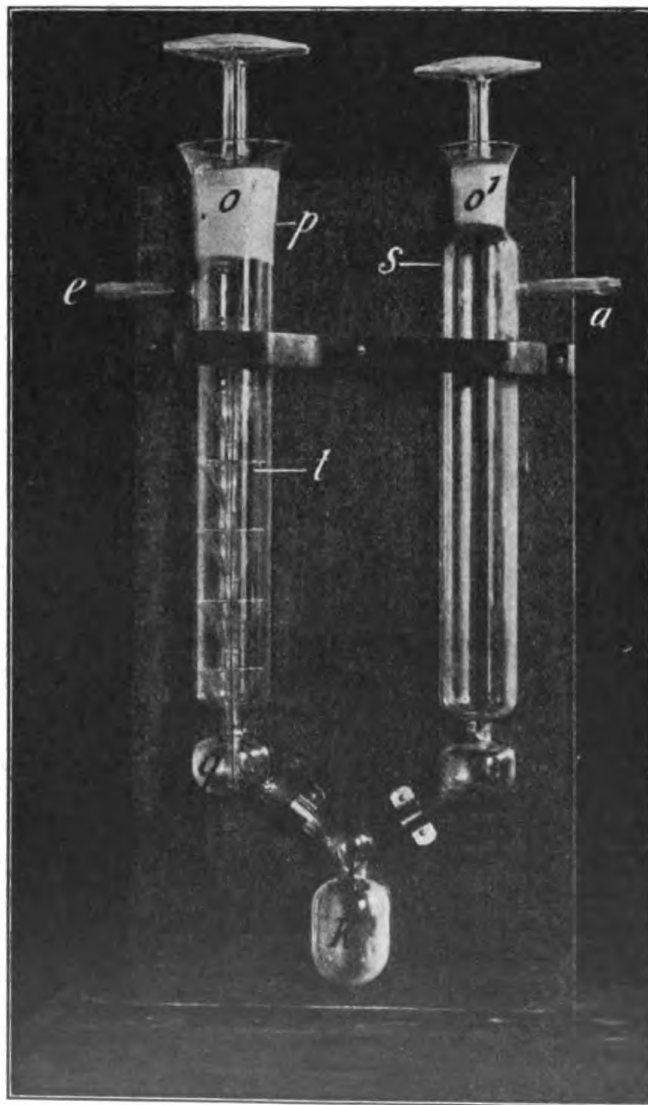


Fig. 3. Trockenröhre nach Arthur Meyer. *e* Schlauchansatz des das Phosphorpentoxyd enthaltenden Rohrschenkels *p*, welches an das Saugrohr *A* (Fig. 1) der Geryk-Pumpe anzuschließen ist. *a* Schlauchansatz des Schwefelsäurerohres *s*. *k* Kugel, in welcher sich der Ueberschuß der Schwefelsäure ansammelt. *o* und *o'* Glasstöpsel. *t* Aus Trichtern, durch deren Rohr ein Eisenstab geführt ist, zusammengesetztes Gestell, zur Aufnahme des Phosphorpentoxyds.

phorpentoxyd ( $P_2O_5$ ). Das Gestell (Fig. 3 *t*) besteht aus ca. 8 ineinander gestellten gewöhnlichen Glastrichterchen von 4 cm Weite, deren Rohr bis 3 cm Länge gekürzt wurde. Durch alle Trichterröhrchen wird ein dicker auf Eisendraht gesteckt, der oben zu einer Oese gebogen ist, und welcher

Das Saugrohr *A* wird nun dauernd mit einer „Trockenröhre nach Arthur Meyer“ (Fig. 3) verbunden, von welcher ein Kautschukschlauch zum Kulturvakuum (Fig. 4) führt. Dieser Trockenapparat hat die Bestimmung, das Oel der Pumpe frei von Wasser zu erhalten und zugleich die Gase und Dämpfe, die aus den Bakterienkulturen entweichen können, soweit wie möglich zu absorbieren. Wenn bei der Kultur besonderer Species es nötig erscheint, so legt man vor das Schwefelsäurerohr noch ein Rohr mit Aetzkalkstückchen vor. Die Trockenerhaltung des Oeles ist absolut nötig, wenn die Pumpe ihre höchste Leistungsfähigkeit behalten soll.

Als „Trockenröhre“ benutze ich ein besonders gebautes U-Rohr. Die Länge jedes Schenkels des U-Rohres (mit Einschluß des Stückes *g*) beträgt 39 cm, die lichte Weite 4,5 cm. Das in der Zeichnung links liegende Rohr *p* enthält ein Gestell zur Aufnahme von Phos-

dann unten hakenförmig umgebogen wird, so daß die Trichter nicht mehr hinabfallen können. Auf die Trichterchen trägt man dann Phosphorpentoxyd (*Acidium phosphoricum anhydric. albissimum*) auf. Dieses Präparat soll möglichst frei von  $P_4O_6$  sein, einem flüchtigen, giftigen Körper, mit welchem es oft verunreinigt ist<sup>1)</sup>. Man stellt das mit Phosphorpentoxyd beschickte Rohr, nachdem man die Schlauchansätze verschlossen hat, am besten einige Tage in das Sonnenlicht, um den Körper, wenn er vorhanden ist, unschädlich zu machen. Der Fabrikant kann ihn durch Sublimation des Präparates im Sauerstoffstrome entfernen.

Das Rohr *s* wird zuerst mit einigen größeren Bimssteinstückchen versehen, die das Loch der unteren eingezogenen Stellen etwas verschließen. Dann füllt man das Rohr mit kleinen, mit konzentrierter Sahwefelsäure durchtränkten Bimssteinstückchen bis etwas unter den Schlauchansatz voll. Der Ueberschuß von Schwefelsäure fließt in die Kugel *K* ab. Man darf deshalb auch nachträglich noch etwas konzentrierte Schwefelsäure auf die Bimssteinstückchen aufgießen.

Beide Rohre werden nun mit den Glasstöpseln *o* und *o'* verschlossen, die mit Vaseline gut eingefettet sind, dann wird geschmolzene, nicht zu warme, amerikanische Vaseline über die Stöpsel in die trichterförmige Erweiterung der Rohrhülse gegossen, um die Stöpsel ganz luftdicht abzuschließen. Der Stöpsel *o* der Röhre *p* hat unten einen Durchmesser von 4,5 cm, oben einen solchen von 7 cm und ist 3 cm hoch; er trägt oben einen Griff. Der Stöpsel des Rohres *s* ist nur 2,5 und 3,5 cm breit und 3 cm hoch und ist ebenfalls mit einem Griffe versehen. Das Rohr trägt zuletzt oben die Schlauchansätze *e* und *a*. Es ist an einem Brette so befestigt, daß die Schlauchansätze und die Hälfte des Rohres über das Brett vorragen.

Die Trockenröhre ist nach meiner Zeichnung von Christian Kob & Co. in Stützerbach in tadelloser Weise angefertigt worden und kann von dort bezogen werden.

Der Schlauchansatz des Phosphorsäureschenkels *p* der Trockenröhre wird am besten mittels eines biegsamen Metallschlauches, welcher durch leichtflüssiges Lot an dem Saugrohre festgelötet, mit dem Schlauchansatz des Rohres mittels Siegelack in zweckmäßiger Weise verkittet wird, mit dem Saugrohre der Luftpumpe verbunden. Dieses Metallrohr und die Lötung und Verkittung desselben besorgt eventuell Pfeiffer in Wetzlar. Man kann auch in einfacherer Weise einen Kautschukschlauch, der eine Drahtspirale enthält, zur Verbindung benutzen. Ein solcher dient ebenfalls zur Verbindung des anderen Schlauchansatzes der Trockenröhre mit dem Kulturvakuum und ist von Pfeiffer in guter Qualität zu beziehen.

### Das Kulturvakuum

besteht zuerst aus einem cylindrischen Gefäße *k* (Fig. 4) mit ebener Bodenfläche und einem 4 cm breiten oberen Rande *r*. Die lichte Weite des Gefäßes beträgt 11 cm, die lichte Höhe 15 cm; der Rand ist auf der Oberseite äußerst sorgfältig plan geschliffen. Das Gefäß wird durch einen Deckel geschlossen, welcher etwas gewölbt ist, einen gleichen plan geschliffenen Rand besitzt wie das Gefäß und oben einen

1) Die Angabe verdanke ich Herrn Dr. Schenck, welcher später Näheres darüber veröffentlichen wird.

Tubus *h* von ungefähr 4,5 cm Länge trägt, in welchem der Hahnbolzen sitzt. Dieser Hahntubus mit dem Hahnbolzen ist in Fig. 5 besonders in natürlicher Größe dargestellt.

Der Tubus ist oben auf 4 cm lichte Weite trichterförmig erweitert, so daß zwischen ihm und der Basis des Hahngriffes eine Rinne *t* bleibt, welche 1,3 cm tief ist. Der Hahnstopfen ist (von *o* bis *u*) ungefähr 9,5 cm

lang, nur oben offen und durchaus hohl. Das oben offene Schlauchrohr *s* ist 9 mm dick, trägt seitlich je einen hohlen, 2 cm langen, cylindrischen Fortsatz *g* als Griff und ist mit seinem hohlen Hahnbolzen in den Tubus sehr sorgfältig eingeschliffen. Die

Schlifffläche des Hahnbolzens ist 2,5 cm hoch; in der Mitte des letzteren befindet sich ein Loch *l*, welches mit einer Schliffrinne *r* korrespondiert, die in der Innenfläche des Tubus hinabläuft. Die untere Spitze des Hahnbolzens muß über dem Niveau der Schlifffläche des Deckelrandes liegen, damit sie beim Abziehen des Deckels nicht hindert.

Beim Gebrauch des Vakuums bestreicht man die Schlifffläche desselben mit wasserfreiem Wollfette (Adeps

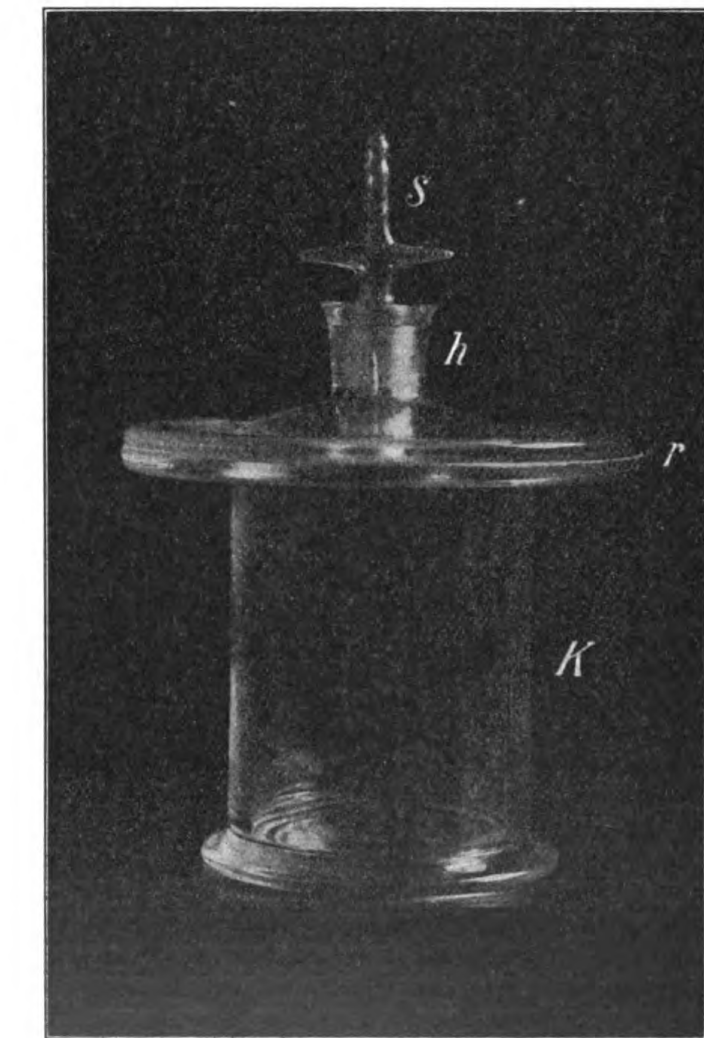


Fig. 4. Kulturvakuum nach Arthur Meyer. *K* Kulturgefäß. *r* Rand des Kulturgefäßes. *h* Tubus des Deckels. *s* Hahnbolzen.

lanae puriss. anhydric. F. 38—40° C). Es liefert einen vorzüglichen Schluß bei gewöhnlicher Temperatur. Will man das Vakuum bei 28° und höher benutzen, so wende man ein geschmolzenes Gemisch von 30 g Karnaubawachs und 40 g Wollfett als Verschlusmittel an. Man legt den Deckel auf und dreht ihn vorsichtig, unter Aufdrücken, hin und her, bis alle Luftblasen zwischen den Schliffflächen entfernt sind. Man kann auch während des Auspumpens durch Drücken und Schieben die Masse zwischen den Flächen noch gleichmäßiger verteilen, so daß die Zwischensubstanz völlig homogen erscheint. Man muß gleichzeitig den Hahnbolzen mit Woll-

fett einstreichen und zuletzt geschmolzenes Wollfett in die Rinne eingießen. Nimmt man den Hahnbolzen einmal heraus, so muß man stets wieder das Wollfett aus der Rinne entfernen und frisch geschmolzenes aufgießen, da nur so vollständiger Schluß erhalten bleibt. Beim Oeffnen des Apparates öffnet man zuerst den Hahn, dann kann man den äußeren Rand der planen Fläche mit einer Bunsenflamme vorsichtig ein wenig anwärmen, indem man mit der letzteren um den Rand herumfährt. Hierauf hält man das untere Gefäß mit der einen Hand recht fest, umfaßt mit der anderen den Tubus, zugleich die Fläche der Hand auf die Oberfläche des Deckels auflegend, und schiebt den Deckel wagrecht ab.

Zur Prüfung des Kulturvakuum auf Brauchbarkeit stellt man das sogleich zu beschreibende Kulturmanometer in das Gefäß, gibt etwa 30 ccm Wasser hinzu, schließt den Apparat sorgfältig, pumpt ihn möglichst weit, bei offenem Hahn, aus und stellt ihn, nach Schluß des Hahnes, bei seite. Man beobachtet nach einer Viertelstunde und dann wieder nach 5 Tagen den Stand des Thermometers und Manometers genau und muß dann finden, daß keine Veränderung des Luftdruckes eingetreten ist.

Der Apparat ist genau nach meinen Angaben von Franz Hegershoff in Leipzig (Carolinestraße 13) hergestellt worden. Man kann ihn von dort direkt, unter der Bezeichnung: Kulturvakuum nach Arthur Meyer, beziehen. Die Herstellung tadelloser Apparate macht ziemliche Schwierigkeiten; es sind die Apparate deshalb stets beim Empfang zu prüfen.

#### Das Kulturmanometer.

Das Kulturmanometer besteht aus einem Schalenstativ *f, g, a, d* (Fig. 6), welches dazu dienen soll, Kulturschalen aufzunehmen und das Manometer zu tragen und das mit diesem auf gleicher Platte befestigte Thermometer. Das Schalenstativ ist aus 2 mm dickem vernickelten Messingblech hergestellt. An der kreisförmigen Platte *p* (Fig. 6 und 7) ist ein Gestell *ga* angenietet. Der Arm *a* ist mit dem Bleche noch durch einen 2 mm dicken Messingdraht (*d*) verbunden, welcher den Zweck hat, die Schalen von dem Manometer fern zu halten, und ragt oben 1 cm über den Rand der Scheibe vor. Die Scheibe besitzt drei 6 cm lange Füßchen, von denen das eine, welches aus Messingblech besteht, 7 mm über den Stand der Scheibe hinausragt, während die anderen beiden Füßchen aus 4 mm dickem Draht hergestellt sind. In *a* ist ein konisches Loch gebohrt, durch welches ein oben in eine Kugel *k* endender Zapfen hindurchgeht, an dem die Manometerskala (*s*)

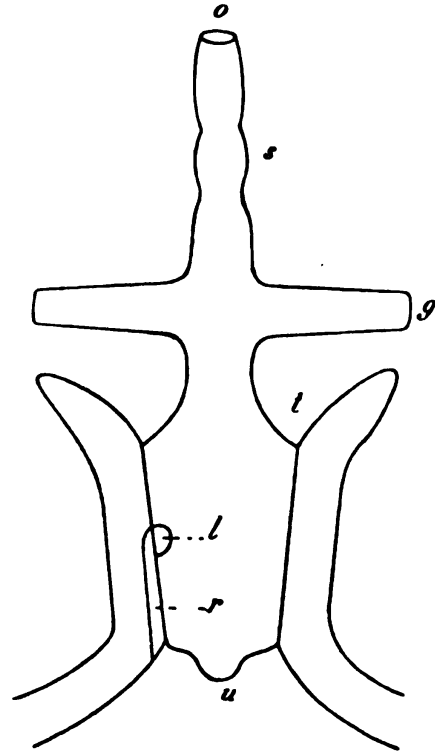


Fig. 5. Tubus mit Hahnstopfen zum Kulturvakuum. Nat. GröÙe. *o* Oeffnung des Hahnes (Schlauchansatz). *g* Cylindrischer Griff des Hahnes, *t* Rinne zum Eingießen des Verschlusmittels. *l* Loch im hohlen Hahnbolzen. *r* Rinne im Tubus. *u* Unteres Ende des Hahnbolzens.



hängt, welche aus 1 mm dickem Messingblech hergestellt ist. In die Skala ist eine Millimeterteilung eingeritzt, in deren Teilstriche von 5 zu 5 mm in der Mitte der Skala Punkte, von 10 zu 10 mm in der Mitte und am linken Rande fortlaufende Zahlen zur Erleichterung des Ablesens eingeschlagen sind. Auf der Rückseite der Skala sind unten Bleistückchen angeschraubt, welche eine genaue senkrechte Aufhängung

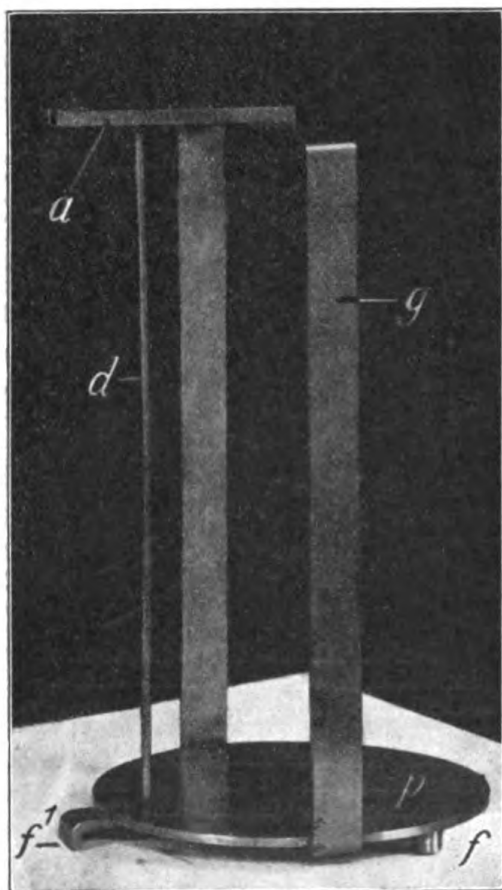


Fig. 6.

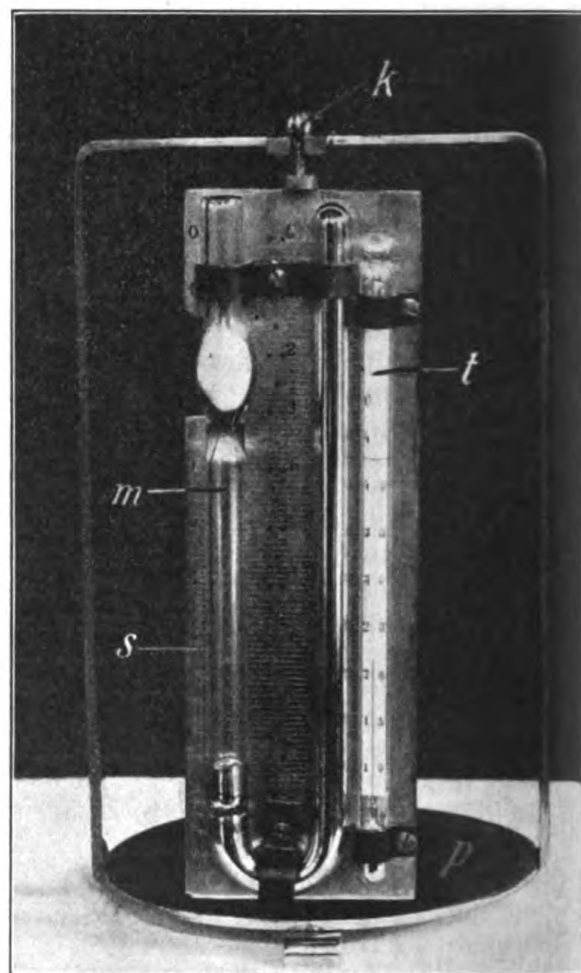


Fig. 7.

Fig. 6 und 7. Kulturmanometer nach Arthur Meyer. *f* und *f*<sup>1</sup> Füße. *g* und *a* Träger des Gestelles. *d* Draht. *m* Manometer. *k* Kugelgelenk, an welchem das Manometer hängt. *t* Thermometer. *s* Skala.

der Skala gewährleisten. Auf der Skala ist das Manometerrohr und Thermometer befestigt. Das rechts neben dem Manometerrohre hängende Thermometer ist in 0,5° C geteilt, reicht von 12–45° und besitzt einen äußeren Durchmesser von 0,5 cm. Der obere Rohrteil des Thermometers ist etwas erweitert, so daß man das Instrument ohne Gefahr etwas über 45° erwärmen kann.

Das 12 mm lange kalibrierte Manometerrohr (Fig. 7 *m* und Fig. 8) ist 5 mm im Lichten weit. Bei *k* ist der offene Schenkel etwas kugelförmig erweitert, darunter, bei *j*, unter Verdickung der Wand bis auf ungefähr 1,5 mm verengt. 15 mm vom untersten, äußersten Punkte

der gebogenen Stelle des Rohres entfernt, ist im offenen Schenkel eine nach oben offene 6 mm lange Spitze (*s*) zum Abfangen der Luftblasen eingeschmolzen. Dabei ist darauf geachtet, daß beide Schenkel durchaus gleich weit bleiben, soweit sie zur Messung benutzt werden. Die Mitte der Stelle *j* muß von dem Ende der Spitze *s* mindestens 7,5 cm entfernt sein.

Wenn das mit Quecksilber völlig gefüllte Manometer versandt werden soll, so wird ein längeres Holzpflockchen mit der Spitze in die enge Stelle des Rohres fest eingepreßt. Wird es in Gebrauch genommen, so entfernt man zuerst den Holzpflock und saugt durch die Luftpumpe mittelst einer Glaskapillare, welche mit einer Saugflasche und dadurch mit der Luftpumpe verbunden ist, das Quecksilber aus dem offenen Schenkel bis 4 mm über der Glasspitze ab. Hierauf bringt man in die Kugel wenig Baumwolle, dann ein Gemenge von etwas Baumwolle mit echtem Schaumgold, welches dazu dienen soll, die Quecksilberdämpfe abzufangen.

Zur Prüfung des Manometers sehe man zuerst mit der Lupe nach, daß der geschlossene Schenkel an der Spitze keine Spur Luft enthält. Weiter stelle man das Manometer in das feuchte Kulturvakuum und pumpe längere Zeit aus, so daß das Vakuum gut mit Wasserdampf ausgespült wird. Dann darf sich das Manometer nicht tiefer stellen als es dem Wasserdampfdrucke und dem vollständigen Vakuum entspricht. Das Thermometer ist auf seine Richtigkeit nach einem Normalthermometer zu prüfen.

Die Manometerskala bräunt sich in dem mit Bakterienkulturen beschickten Kulturvakuum oft nach einiger Zeit. Man reibt die Skala dann mit inem mit Aether befeuchteten Baumwollenbausche ab.

Das Manometer kann noch zum Messen von ungefähr 95 mm Druck benutzt werden, was bei 18° und dampfgesättigtem Raum einer Sauerstoffkonzentration von 29,3 mg im Liter, bei 28° einer solchen von 22,8 mg im Liter entsprechen würde.

Das Kulturmanometer wird nach einem von mir konstruierten Modelle von Hegershoff in Leipzig angefertigt.

Die Bestimmung der Höhe der Quecksilbersäule des Manometers kann bis auf ungefähr 0,5 mm genau ausgeführt werden, so daß ungefähr 0,17 mg Sauerstoff im Liter mehr oder weniger gefunden werden könnten, als der Tatsache entsprechen würde. Bei schnellem Auspumpen könnten allerdings vielleicht manchmal elektrische Einflüsse noch größere Fehler verursachen.

#### Die Verwendung der Apparate.

Die Apparate können Verwendung finden 1) zur Kultur sauerstoffempfindlicher Bakterien species, 2) zur Trennung verschieden sauerstoff-

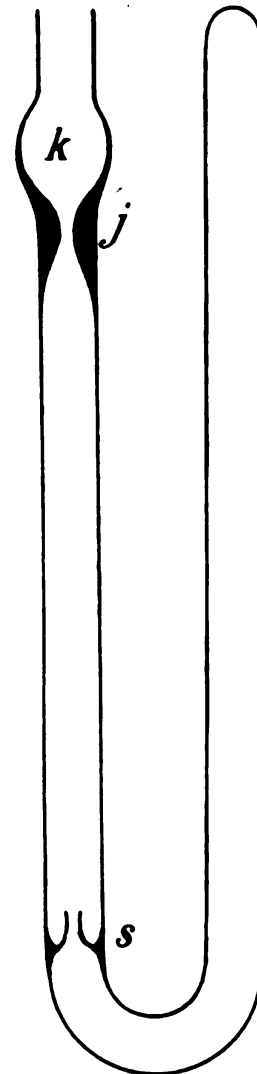


Fig. 8. Manometer des Kulturvakuum in natürlicher Größe. *k* Kugel zur Aufnahme des Goldes. *j* verengte Stelle. *s* Eingeschmolzene Spitze zum Zurückhalten von Luftblasen.

empfindlicher Bakterienspecies, 3) zur Bestimmung der Sauerstoffminima für Sporenbildung, Sporenkeimung und Wachstum der Species.

Zur Kultur der Species wird der mit den betreffenden Materien geimpfte Nähragar etc. in Petri-Schalen von 7 cm Durchmesser ausgegossen, welche auf das Manometerstativ gestellt und mit diesem in das Kulturvakuum gebracht werden. Auf den Boden des letzteren gießt man etwas gut ausgekochtes, luftfreies Wasser, schließt den Apparat und pumpt ihn bis zur gewünschten Luftverdünnung aus. Wenn man mittelst der Geryk-Pumpe so lange evakuiert, bis das Manometer nicht mehr fällt, so werden noch ungefähr 0,5–0,1 mg Sauerstoff im Liter vorhanden sein; eine Verdünnung, die für sehr viele sauerstoffempfindliche Formen genügt. Will man jede Spur von Sauerstoff entfernen, so spült man das Vakuum mit Wasserdampf. Man bringt etwas mehr Wasser in dies Vakuum und pumpt nun bei 20–28° längere Zeit aus, so daß das Wasser siedet oder schnell verdampft. Man tut dann aber eventuell gut, noch eine besondere Schwefelsäureflasche zwischen die Trockenröhre und das Kulturvakuum einzuschalten. Wählt man statt 20–28° eine Temperatur von 40°, so kann man auch mit der Wasserstrahlpumpe auf diese Weise weit kommen. Man stellt dann das Kulturvakuum in ein Wasserbad von 40° und sorgt durch Umhüllung des Deckels und Hahnes mit einem Tuch oder Watte dafür, daß der Wasserdampf wirklich aus dem Apparat herausgerissen wird. Selbstverständlich kann man auch eine Schale mit Pyrogallollösung in den Apparat bringen, um die letzten Spuren des Sauerstoffs zu absorbieren, kann dann aber die Angaben des Manometers nicht zur Berechnung des Sauerstoffgehaltes benutzen.

Will man das Sauerstoffminimum einer Species, z. B. für Sporenkeimung, bestimmen, so bringt man in das mit dem Manometer und etwas Wasser beschickte Kulturvakuum 10 cm lange Agarröhrchen, welche auf der schrägen Fläche mit 1 Minute abgekochtem Sporenmaterial geimpft und mit steriler Watte verschlossen wurden. Man pumpt dann den Apparat schnell so weit wie möglich aus, liest Temperatur und Druck am Manometer ab und läßt den Apparat bei konstanter Temperatur stehen. Nach einem passenden Zeitraume öffnet man den Apparat und prüft auf Keimung. Ist diese nicht eingetreten, so pumpt man das zweite Mal schnell weniger weit aus, notiert wieder Temperatur und Druck und beobachtet nach passender Zeit wieder. So fährt man fort, bis man Sauerstoffkonzentration festgestellt hat, bei der gerade noch Keimung eintritt.

**Die Verhältnisse, welche im Apparate herrschen können.**

Für alle Arbeiten mit dem Kulturvakuum ist die Bestimmung der bei bestimmtem Manometerstande und bestimmter Temperatur im Kulturvakuum herrschenden Sauerstoffkonzentration von Bedeutung, denn sie, nicht der Gasdruck, bedingt wesentlich den Einfluß der verdünnten Luft auf die Bakterienspecies. Um die Angaben über die Sauerstoffkonzentration sicher und leicht vergleichbar zu machen, berechnen wir aus den Angaben des Manometers und Thermometers stets, wieviel Milligramme Sauerstoff pro Liter des Kulturvakuums vorhanden sind.

Wir können zum besseren Verständnis dieser Angaben festhalten, daß im Liter Sauerstoff bei Zimmertemperatur und gewöhnlichem Barometerstande ungefähr 1336 mg, im Liter Luft ungefähr 276 mg Sauerstoff enthalten sind.

Wollen wir nun feststellen, wieviel Milligramm Sauerstoff in einem



gegebenen Falle in 1 Liter der verdünnten Luft des Kulturvakuum vorhanden sind, so haben wir nach dem Auspumpen zuerst den Stand der Quecksilbersäule des Manometers zu bestimmen. Das Manometer hängt völlig senkrecht, wenn es frei pendelt, und wir brauchen deshalb an beiden Schenkeln nur genau den Stand des Quecksilbers abzulesen und aus der Ablesung die Länge der Quecksilbersäule des geschlossenen Schenkels, welche über dem Niveau der Quecksilbersäule im offenen Schenkel liegt, zu berechnen. Sollte die Stelle vor dem Manometer innen beschlagen sein, so daß die Ablesung erschwert sein würde, so wärmt man diese Stelle von außen mit einem Bausch Baumwolle an, der in heißes Wasser getaucht wurde, um die Stelle von dem niedergeschlagenen Wasser zu befreien, wartet danach, bis sich die Temperatur wieder ausgeglichen hat und liest erst dann ab. Außerdem müssen wir den Stand des Thermometers gleichzeitig mit dem Stand des Manometers genau ablesen.

Die genaue Bestimmung der Temperatur ist von Wichtigkeit. 33 mm Quecksilberdruck zeigt z. B. bei  $17^{\circ}\text{C} = 6,86\text{ mg}$ , bei  $19^{\circ}\text{C} = 6,13\text{ mg}$  Sauerstoff im Liter an. Man beachte dabei, daß durch die Verdampfung des Wassers während des Auspumpens die Temperatur im Vakuum erheblich sinkt. Man muß deshalb nach dem Schließen des Hahnes des Kulturvakuum mit dem Ablesen warten, bis das Thermometer konstant bleibt.

Aus dem abgelesenen Stand des Quecksilbers ( $p$ ) und der Temperatur ( $t$ ) der mit Wasserdampf gesättigten Luft des Kulturvakuum berechnet man in folgender Weise den Sauerstoffgehalt.

Die Frage ist also: „Wieviel Gramm Sauerstoff sind in 1 Liter der im Kulturraum befindlichen Luft, deren Temperatur  $t^{\circ}$ , deren Gesamtdruck  $p$  Millimeter Quecksilber beträgt, enthalten?“

Wir verwenden für die Berechnung folgende Zahlen und Zeichen:

- 20,9 = Gehalt der atmosphärischen Luft an Sauerstoff in Volumenprozenten.  
 1,4292 = Gewicht von 1 Liter Sauerstoff bei  $0^{\circ}\text{C}$  und 760 mm Quecksilberdruck in Grammen, für die geographische Breite  $45^{\circ}$ .  
 $e$  = Tension des gesättigten Wasserdampfes<sup>1)</sup> bei der Temperatur  $t$ , ausgedrückt in Quecksilberhöhen bei  $0^{\circ}$ , in  $45^{\circ}$  geographischer Breite und im Meeresniveau.  
 $t$  = Temperatur des Gasgemisches im Kulturvakuum zur Zeit der Ablesung des Druckes  $p$ .  
 $p$  = Druck der im Kulturvakuum befindlichen Luft in Millimeter Quecksilber.  
 $-273^{\circ}$  = absoluter Nullpunkt.

Die Formel für die Berechnung ist die folgende:

$$\frac{20,9}{100} \cdot \frac{273 + 0}{273 + t} \cdot \frac{p - e}{760} \cdot 1,4292$$

Für das folgende Beispiel würde sich also die Rechnung so gestalten:

$$\begin{aligned} t &= 17^{\circ} \\ e &= 14,395 \text{ (nach der Tabelle in Landolt und Börnstein).} \\ p &= 33 \text{ mm} \\ p - e &= 18,605 \text{ mm.} \\ \frac{20,9}{100} \cdot \frac{273 + 0}{273 + 17} \cdot \frac{18,6}{760} \cdot 1,429 &= 0,209 \cdot 0,94 \cdot 0,0244 \cdot 1,429 \\ &= 0,00685 \text{ g Sauerstoff im Liter.} \\ &= 6,85 \text{ mg Sauerstoff in 1 Liter.} \end{aligned}$$

Will man bei wechselnder Temperatur stets wieder denselben Druck im Kulturvakuum herstellen, so berechnet man am besten die Drucke,

1) Aus Landolt, Börnstein u. Meyerhoffer, Physik.-chemische Tabellen, 3. Aufl. Springer 1905, p. 119, zu ersehen.

welche bei den verschiedenen Temperaturen einer bestimmten Sauerstoffkonzentration entsprechen und pumpt dann entsprechend der Berechnung bei verschiedenen Temperaturen verschieden aus. Wollte man z. B. eine Konzentration von 3 mg Sauerstoff bei den Temperaturen 17°, 18°, 19°, 20°, 21°, 28° im Kulturvakuum herstellen, so würde man folgende Drucke in demselben erzeugen müssen:

17° C	= 22,5 mm
18° "	= 23,5 "
19° "	= 24,5 "
20° "	= 25,5 "
21° "	= 26,7 "
28° "	= 36,5 "

Zur Berechnung kann man folgende Formel benutzen, in welcher  $g$  den Gehalt des Liters an Sauerstoff in Gramm bedeutet.

$$p = e \text{ (bei } t^{\circ}) + \frac{(g \cdot 100 \cdot 760) \cdot (273 + t)}{1,429 \cdot 20,9 \cdot 273}$$

Als Beispiel möge folgende Berechnung dienen. Es soll berechnet werden, wieviel Millimeter Quecksilberdruck ( $p$ ) bei 17° C im wasserdampfgesättigten Kulturvakuum herrschen müssen, wenn der Raum im Liter 6,85 mg Sauerstoff enthalten soll.

$$p = 14,395 + \frac{(0,00685 \cdot 100 \cdot 760) \cdot (273 + 17)}{1,429 \cdot 20,9 \cdot 273}$$

$$p = 33 \text{ mm.}$$

Wenn es sich darum handelt, das Sauerstoffminimum für das Wachstum der Oidien etc. zu bestimmen, so muß natürlich der Verbrauch des Sauerstoffes durch die atmenden Bakterien berücksichtigt werden. Wächst eine Species kräftig im Kulturvakuum, so kann nach kurzer Zeit die Sauerstoffkonzentration erheblich abgenommen haben. Man muß dann, um richtige Resultate zu erhalten, in passenden Zwischenräumen Luft in das Vakuum einströmen lassen und sofort wieder bis zur gewünschten Konzentration auspumpen. Hat man so annähernd das Minimum bestimmt, so kann man Versuche in dessen Nähe anstellen, die dann bei dem geringen Wachstum der Bakterien genaue Resultate geben. Die plötzlichen Druckschwankungen scheinen den Bakterien nicht zu schaden, wie ja auch Johannsen (Ueber den Einfluß hoher Sauerstoffspannungen auf die Kohlensäureausscheidung einiger Keimpflanzen; Untersuchungen aus dem botanischen Institut zu Tübingen, Bd. I. p. 715) bei höheren Pflanzen unter solchen Umständen keine Schädigung eintreten sah.

Durch die Bildung der Kohlensäure wird selbstverständlich der Stand des Manometers im Kulturvakuum nicht beeinflusst. Will man den Grad der Veränderungen der Luftzusammensetzung durch die Atmung feststellen, so kann man von vorne herein statt des Wassers 23-proz. Kalilauge in das Kulturvakuum bringen, muß dann aber bei den Berechnungen „die Tension des Wasserdampfes aus 23-proz. Kalilauge“ statt der Tension des Wasserdampfes einsetzen. Die Größe der Verschiedenheit dieser beiden Zahlen mögen die folgenden den Tabellen von Landolt und Börnstein entnommenen Zahlen zeigen.

Wasserdampf aus Wasser.    Wasserdampf aus 30 KOH + 100 H<sub>2</sub>O.

Temperatur	Tension	Tension
16° C	13,56	10,82
17° "	14,45	11,54
18° "	15,38	12,29
19° "	16,37	12,69
20° "	17,41	13,93

Zu beachten ist dabei, daß manche Bakterienspecies auch noch andere Gase als CO<sub>2</sub> ausscheiden.

Mit diesen Apparaten in meinem Institute angestellte Versuche über die Kardinalpunkte der Sauerstoffspannung für Bakterien werden bald veröffentlicht werden.

**Bezugsquellen der beschriebenen Apparate.**

Münchener Wasserstrahlpumpe mit Hemmung: Dr. Bender & Dr. Hobein in München.

Geryk-Luftpumpe (Fleuss' Patent) Modell Duplex A mit Hahn und Luftschräube. Leistung pro Hub 200 ccm, erreichbares Vakuum bis zu 0,0002 mm Hg: Arthur Pfeiffer in Wetzlar.

Trockenröhre nach Arthur Meyer mit Gestell: Christian Kob & Co., Stützerbach. Kann auch von Pfeiffer und von Hegershoff geliefert werden.

Kulturvakuum nach Arthur Meyer: Franz Hegershoff in Leipzig, Carolinenstraße 13.

Kulturmanometer: Franz Hegershoff in Leipzig, Carolinenstraße 13.

Man prüfe die Apparate bei Empfang und weise Unbrauchbares zurück.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber den Einfluss der Metalle auf gärende Flüssigkeiten.

[III. Mitteilung.]

Von **Leopold Nathan**, Zürich, unter Mitarbeit von **Arthur Schmid**.  
(Referent **Willy Fuchs**.)

Mit 6 Tafeln.

### C. Versuche mit Bierwürze unter gleichzeitiger Einwirkung verschiedener Metalle.

In Verfolg der bereits früher veröffentlichten Versuche<sup>1)</sup> über Giftwirkung der Metalle war es nicht unwahrscheinlich, daß die gleichzeitige Einwirkung verschiedener Metalle, wie sie z. B. in den Apparaten des Sudhauses, Maischefiltern etc. eintreten kann, ein anders geartetes, möglicherweise verstärktes Resultat zeitigen könnte, als die einfach addierten Wirkungen dieser Metalle. Es wurden bei dieser Versuchsanordnung die Metalle getrennt gelegt, damit sich bei der etwaigen Bildung einer Potentialdifferenz kein Stromkreis entwickeln könne, welcher natürlich neben der chemischen zu einer elektrolytischen Einwirkung Anlaß gegeben hätte. In meiner Absicht lag es jedoch, vorerst einzig den chemischen Einfluß verschiedener Metalle festzustellen.

In derselben Anordnung wie früher wurden wieder je 800 ccm einer Würze von 12,8 Proz. Balling mit je 5 ccm dicker Hefe, wie sie immer verwendet wurde, angestellt (siehe Tabelle p. 350–351).

Die Erscheinung, daß die abgespaltenen Kohlensäuremengen wegen ihrer Gleichheit nicht als Kriterium benützt werden können, wiederholt sich auch hier. Da wir es bis auf Kupfer nach Versuchsreihe 3 mit durchwegs sehr starken Giften zu tun haben, so verlaufen alle Gärungskurven verzögert; immerhin sind die graphischen Darstellungen sehr instruktiv (s. d.).

Da es müßig erscheint, den feineren Unterschieden in der Giftwirkung nachzugehen, so sei nur kurz darauf verwiesen, daß eine deutlich gesteigerte Giftwirkung bei Anwendung verschiedener Metalle nicht auftritt. Die angewendeten Metallpaare verhalten sich ungefähr so, wie ihre Legierungen. Zu bemerken ist, daß Nummer 3 und 4 mit einem indifferenten und einem mittelstarken Metall viel stärkere Hefenernten zeigen, als alle anderen Metallpaare mit starken Hefengiften. Bei

<sup>1)</sup> Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. II. 1904. No. 1–3. p. 93 und 1905. No. 9/10. p. 189.

No.	Metall je 1 Cylinder	Gewicht der Cylinder	Gewicht der Flaschen													
		Tag: 1	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
1	Zinn + Blei	91,031 g 144,3345	1742,627	42,15	39,80	36,02	29,50	26,27	23,46	20,50	18,50	16,17	14,40	13,20	12,12	
2	Zinn + Kupfer	86,708 59,075	1729,585	29,33	27,30	23,55	17,55	11,97	08,57	05,20	03,12	01,16	99,85	99,05	98,45	
3	Zinn + Silber	87,746 31,267	1807,965	07,60	05,30	01,20	93,80	90,08	86,91	83,85	81,85	79,96	78,50	77,58	76,95	
4	Kupfer + Zink	59,235 30,162	1549,645	49,10	46,60	42,50	33,70	29,86	26,82	24,20	22,65	21,10	19,95	19,18	18,55	
5	Kupfer + Eisen	59,330 31,895	1629,607	29,10	26,70	22,55	14,70	10,92	07,68	04,67	02,90	01,18	99,98	99,22	98,66	
6	2 Cylinder Zinn im Licht	179,400	1743,403	43,05	40,52	36,10	27,40	23,06	19,49	16,57	15,05	13,65	12,87	12,42	12,10	
7	2 Cylinder Zinn im Dunkeln	179,240	1688,675	—	86,55	83,00	75,20	71,53	68,19	65,15	62,95	61,15	59,62	58,67	58,12	
8	Blei mit 1 ccm Hefe	143,553	1615,583	15,46	15,40	14,00	08,15	05,53	03,50	01,40	99,97	97,96	95,92	93,92	91,63	
9	Blei mit 5 ccm Hefe	142,553	1583,878	83,46	81,33	77,50	71,00	68,01	65,44	62,71	60,86	58,65	56,90	55,52	54,40	

Nummer 6 und 7 zeigt sich eine günstige Einwirkung des Lichtes auf Gärung und Hefebildung. Die Resultate decken sich mit den in den vorhergehenden Versuchsreihen gefundenen.

In dem nun folgenden Gärversuch Nummer 5 (siehe Tabelle p. 351) wurden wieder einzelne Metalle verwendet und wurde ein neues Kriterium, der Helligkeitsgrad des Bieres nach der Gärung, eingeführt. Die Bestimmung der Farbentiefe der Würze geschah nach den Wiener Vereinbarungen<sup>1)</sup>. Da die Skala nicht genügte, so wurden die Grade noch halbiert. Je 780 ccm einer Stammwürze von 11,8 Proz. Balling und einer Farbentiefe von No. 7 wurden mit je 4,5 ccm dickflüssiger Hefe derselben Provenienz angestellt, nachdem die Flaschen vorher mit den Metallen 2 Stunden bei 80° C sterilisiert worden waren.

Schon vor der Hefengabe zeigte die Eisen- und die Stahlwürze einen grauen voluminösen Niederschlag von ca. 20 ccm und eine graugelbe Farbe. Die Zinkwürze war in den unteren Schichten opalisierend und die Bleiwürze hatte auf der Oberfläche teilweise eine dünne Haut, wie etwa von einer Kahlhefe. Am 8. Tage war der Niederschlag bei Eisen und Stahl etwa zur Hälfte wieder gelöst, das Bier über Stahl etwas entfärbt und glanzhell; am 10. Tage Eisen ebenfalls. Von den anderen war das Zinkbier am 8. Tage merklich aufgehellt, die übrigen

1) Windisch, W., Das chemische Laboratorium des Brauers. p. 303.

## würze von 12,8 Proz. Balling.

15	16	17	18	19	20	21	Gewichtsverlust an Kohlensäure	88	Gewichtsverlust an Kohlensäure	Gewicht der Metallcylinder nach der Gärung	Gewichtsverlust	Hefeermte getrocknet	Aussehen der Flüssigkeit am 21. Tage
11,40	10,80	10,43	10,12	10,06	09,96	0709,85	32,777	1707,93	34,697	91,065	+0,034	1,92	grauschwarze Farbe, durchscheinend
										144,320	-0,0145		
										86,718	+0,010	1,71	ziemlich hell
										59,090	+0,015		
										87,746	0,000	2,00	nur oben etwas durchscheinend
										31,266	-0,001		
										59,235	0,000	2,44	fast glanzhell
										29,990	-0,172		
										59,320	-0,010	1,66	sehr dunkel, schwarzgraue Farbe, trübe
										31,732	-0,163		
												2,02	ganz trüb
												1,89	dunkel gefärbt, aber gut durchscheinend
												1,71	noch etwas Gasdruck, etwas trübe
												1,84	ziemlich hell

88. Tag: Alle Flaschen ziemlich gleich hell nur No. 6 etwas milchigtrüb.

## Gärversuch No. V mit Bierwürze von 11,8 Proz. Balling.

No.	Metall	Gewicht der Flaschen	3	4	6	8	12	15	21	29	Gebildete CO <sub>2</sub>	83	Gebildete CO <sub>2</sub>	Hefeermte getrocknet	Farbtiefe
		Tag: 1													
1	Glas	1462,20 g	58,00	—	—	39,50	36,00	35,50	35,01	34,83	27,37	33,10	29,10	3,105	7
2	Alpacca	1659,41	56,40	53,40	43,60	37,50	33,50	32,40	31,83	31,51	27,90	29,75	29,66	2,397	6,5
3	Aluminium	1632,83	30,00	26,90	17,00	11,00	07,30	06,10	05,31	05,00	27,83	02,85	29,98	2,308	4
4	Al.-Bronze	1600,68	97,30	94,00	84,00	78,20	74,80	73,60	72,93	72,55	28,13	70,35	30,33	1,855	7
5	Blei	1918,73	17,00	14,80	08,50	02,00	05,00	02,20	00,95	00,55	28,18	88,55	30,18	2,110	5,5
6	Bronze	1484,15	80,60	77,20	67,50	61,50	58,50	57,60	56,90	56,70	27,45	54,75	29,40	1,740	6
7	Britannia	1556,87	54,40	51,20	41,00	34,00	30,70	29,80	29,33	29,10	27,77	27,05	29,82	2,610	6
8	Durana	1564,54	61,80	58,80	49,50	42,50	38,60	37,50	36,90	36,70	27,84	34,70	29,84	1,750	7
9	Eisen, blank	1593,68	91,00	88,30	80,50	74,80	70,10	67,70	66,20	65,75	27,93	63,30	30,38	—	7
10	Gold	1580,40	77,50	74,20	64,30	58,50	54,60	53,30	52,64	52,25	28,15	50,25	30,15	1,860	7
11	Silber	1643,42	40,60	37,20	27,50	21,00	17,40	16,10	15,32	14,95	28,47	12,70	30,72	2,400	7
12	Kupfer	1645,81	43,00	40,20	31,00	24,50	20,20	18,80	17,99	17,55	28,26	15,30	30,51	2,230	8
13	Meteorit	1734,08	31,30	28,30	18,50	12,20	08,20	06,80	05,90	05,65	28,43	03,20	30,88	1,560	7
14	Messing	1581,67	79,80	77,00	68,50	61,50	56,80	55,20	54,32	54,00	27,67	50,70	30,97	1,920	7,5
15	Neusilber	1611,05	08,80	05,70	06,50	09,70	08,50	08,30	08,14	08,85	28,20	78,80	32,25	2,480	6,5
16	Nickel	1615,95	14,30	11,40	02,50	09,70	09,60	09,00	08,07	08,42	28,33	85,60	30,35	1,900	6
17	Ni.-platt.-Flußstahl	1557,75	54,20	50,80	41,00	35,20	31,40	30,20	29,49	29,16	28,59	26,20	31,55	2,250	6,5
18	Nickelstahl	1542,62	39,70	36,20	26,00	19,70	16,30	15,45	14,94	14,77	27,85	12,70	29,92	—	7
19	Phosphor-bronze	1512,50	09,80	06,20	09,50	08,40	08,50	08,40	08,17	08,95	28,55	81,85	30,65	1,950	7
20	Silbernit	1571,35	04,50	01,70	02,50	03,80	03,10	03,50	02,88	02,67	27,66	27,45	29,88	2,080	7
21	Stahl	1602,55	00,20	07,60	09,50	08,50	08,40	07,30	07,10	07,40	28,13	72,10	30,43	2,400	5

Versuche fast alle gleich trüb. In der Stahl- und Eisenwürze war nur eine geringe Vermehrung weißer Hefe wahrzunehmen, die Hefe von Blei war braunschwarz. Die anderen Versuche zeigten gelbe Hefeschichte am Boden, die Vermehrung war scheinbar bei allen gleich.

Beobachtung am 12. Tag: Stahl und Eisen glanzhell; Al-Bronze, Au, Cu, Ni, P-Bronze, Sn trüb; Glas, Alpacca, Al, Bronze, Ni-platt.-Flußstahl, Ag fangen an, sich in den obersten Schichten zu klären; Blei erscheint nur noch unten trüb; Britannia, Durana, Meteorit, Messing, Neu-Silber, Ni-Stahl, Silbronit zeigen Spuren beginnender Klärung; Zn ist hell, doch noch nicht glanzhell. Beobachtung am 29. Tag, Ende der Gärung: Glas ist noch nicht vollständig glanzhell, Al allein kommt dieser Klarheit sehr nahe, nachher folgt Zn mit größerem Unterschied (ist seit dem 12. Tag nicht heller geworden). Die übrigen Versuche sind an Klarheit ziemlich gleich, Eisen und Stahl nicht ausgenommen; diese fangen augenscheinlich an, sich zu trüben, Farbe der Eisenwürze ist bald ganz schwarz, ebenso die Hefe, welche nur noch in kleinen Parteen grau aussieht; Stahlwürze ist weniger dunkel, die Hefe weniger dunkel als die Fe-Hefe.

Aus der Hefeernte, Farbtiefe<sup>1)</sup> und dem Trübungsgrad<sup>2)</sup> in Verbindung mit dem Verlauf der Gärungskurve läßt sich nun mit erhöhter Sicherheit folgendes schließen: Ganz ohne Einfluß auf Gärung, Hefevermehrung und Aussehen des Bieres scheint nur Glas<sup>3)</sup> zu sein; dagegen scheinen Silber und Gold eine kleine Reduzierung der Hefeernte herbeizuführen. Kupfer und Nickel haben eine Veränderung der Farbtiefe zur Folge, während bei den übrigen Metallen die Wirkung sich in bunter Reihe steigert, was in der mehr oder weniger starken Abweichung einer oder mehrerer der oben genannten Funktionen gleichzeitig von der Normale zum Ausdruck gelangt. Als starke Gifte sind konform den früheren Ergebnissen Eisen, Zinn, Zink, Bronze, Blei, Aluminium, Messing zu bezeichnen.

Aus der Zusammenfassung der bisher veröffentlichten Versuche über Bierwürze ergibt sich, daß das vielfache Zusammenbringen der Bierwürze mit Metallen vor und während der Gärung — es sind dies besonders Kupfer, Eisen und Zinn — durchaus nicht von Vorteil für die Gärung ist und für die Praxis fernerhin der Grundsatz zu gelten hat, die Metalle bei der ganzen Dauer der Bierbereitung möglichst auszuschließen. Als Idealzustand muß entschieden eine Bierbereitung in Glasgefäßen mit zusammenhängenden Wänden ohne Metallgarnituren bezeichnet werden. Weitere Mitteilungen werden sich auf die schädlichen Wirkungen der Metalle auf fertiges Bier beziehen.

1) und 2) Bei Bestimmung des Trübungsgrades ist hier der Einfluß der Farbtiefe noch nicht ausgeschaltet worden, weshalb die Zahlen für die Farbtiefe nur relativen Wert haben. In der folgenden Mitteilung wird eine neue Methode angegeben werden, die gestattet, Farbtiefe und Trübungsgrad unabhängig voneinander zu bestimmen.

3) Dieser Versuch ist nicht maßgebend, weil infolge heftigen Angärens eine nicht bestimmbare Menge Glycerin aus dem Gärverschuß verspritzt wurde.

## Inhalt.

**Boekhout, F. W. J. und Ott de Vries, J. J.**, Ueber die Edamerkäse-  
reifung, p. 321.

**Klebahn, H.**, Eine neue Pilzkrankheit der  
Syringen, p. 335.

—, Zusammenhänge von Ascomyceten mit  
Fungis imperfectis, p. 336.

**Meyer, Arthur**, Apparate für die Kultur  
von anaëroben Bakterien und für die Be-  
stimmung der Sauerstoffminima für

Keimung und Sporenbildung der Bak-  
terienspecies, p. 337.

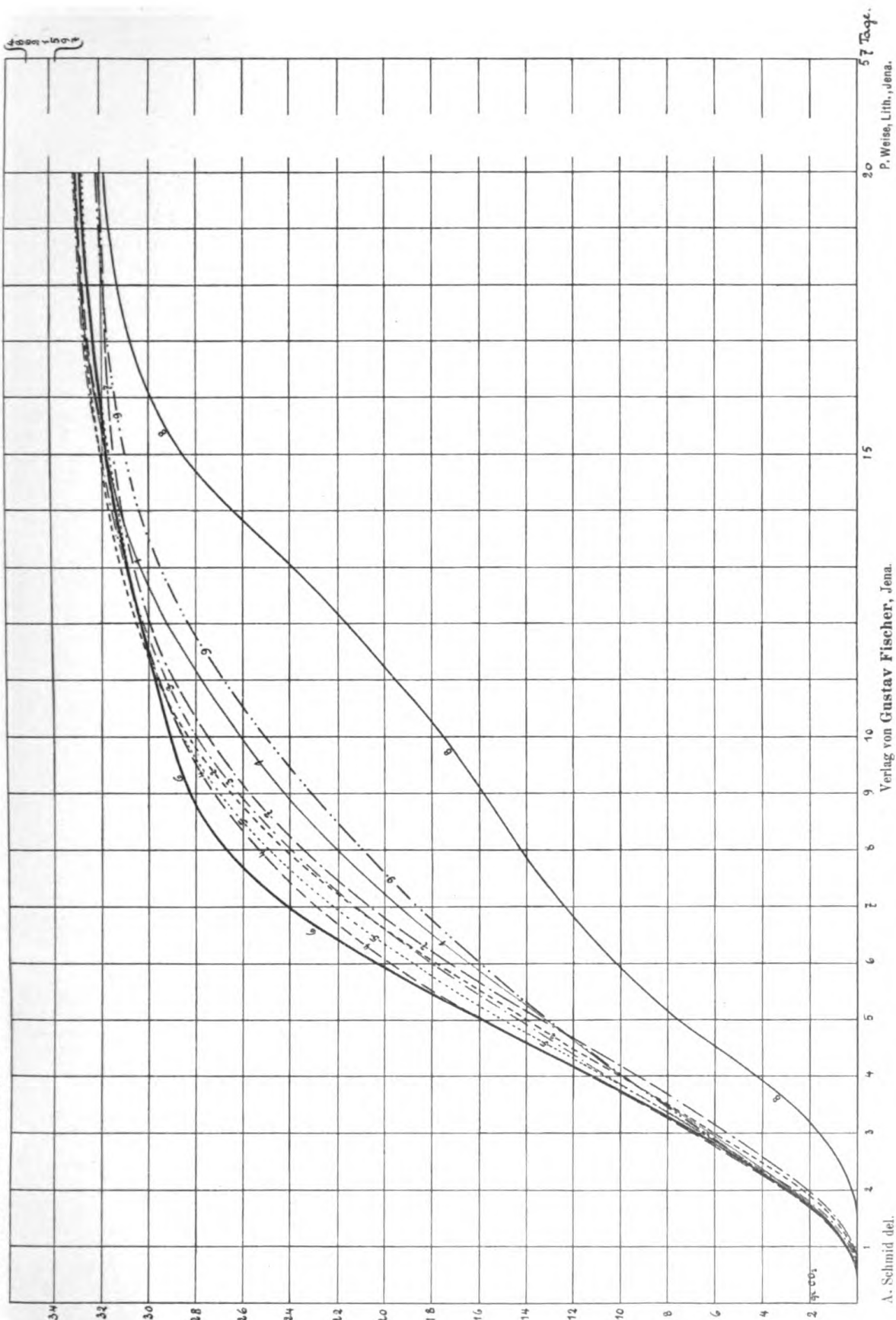
**Nathan, Leopold**, Ueber den Einfluß der  
Metalle auf gärende Flüssigkeiten.  
(III. Mitt.), p. 349.

**Pringsheim, Hans H.**, Ueber den Ur-  
sprung des Fuselöls und eine Buthyl-  
alkohol bildende Bakterienform, p. 300.

**Reinelt, Josef**, Beitrag zur Kenntnis einiger  
Leuchtbakterien, p. 289.



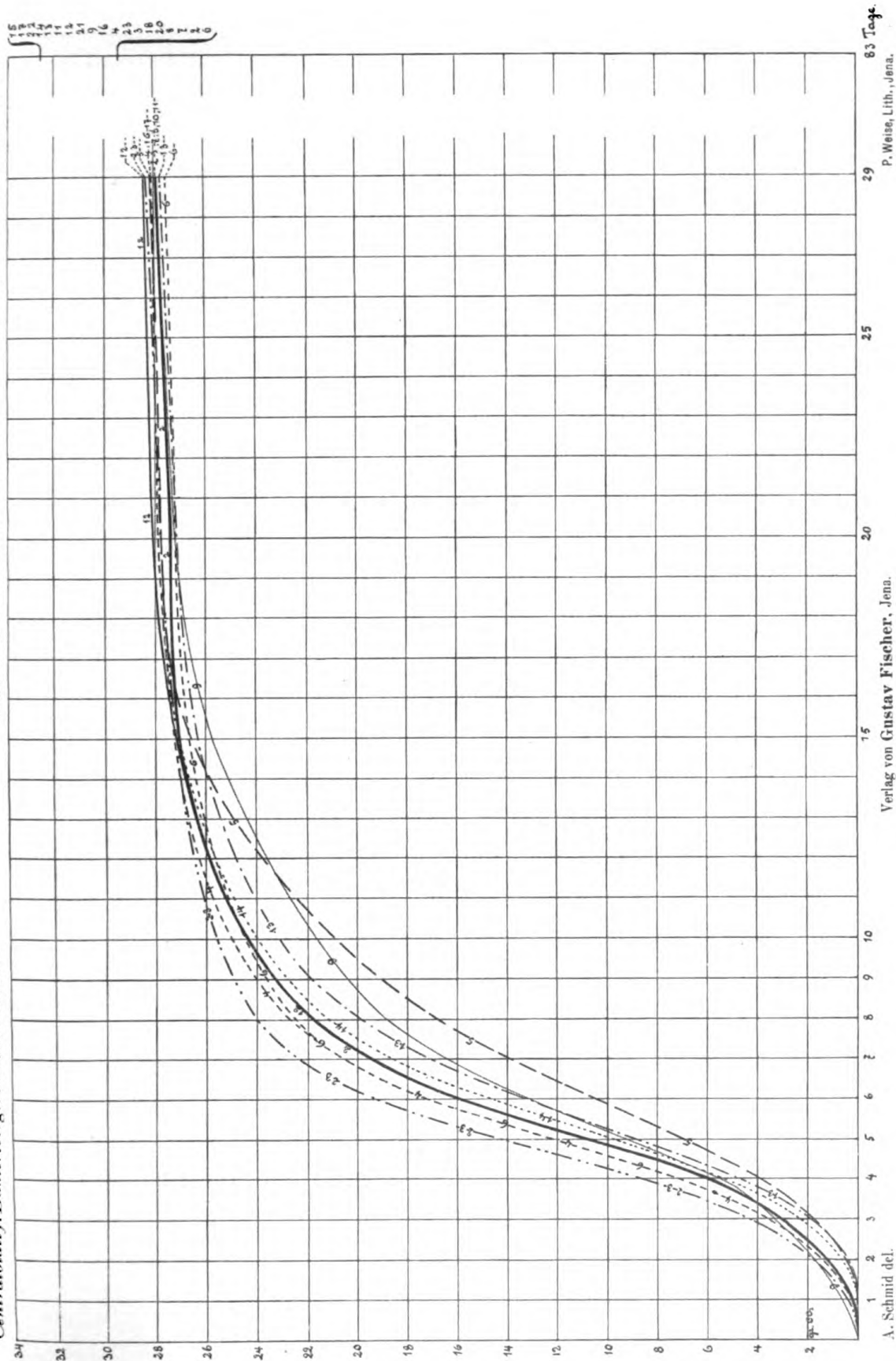
*Versuche mit Bierwürze unter gleichzeitiger Einwirkung verschiedener Metalle.*  
Nathan u. Schmidt, Ueber den Einfluss der Metalle auf gärende Flüssigkeiten. *Tab. 5.*







*Centralblatt f. Bakteriologie Abt. II. Bd. XV.*  
mit Bestimmung von Farbtiefe und Helligkeitsgrad.  
Nathan u. Schmidt, Ueber den Einfluss der Metalle auf gärende Flüssigkeiten. *Tab. 6.*



A. Schmid del.

Verlag von Gustav Fischer, Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

83 Tage



## Original-Mitteilungen.

*Nachdruck verboten.*

### Oberhefe und Unterhefe.

Studien über Variation und Erbllichkeit.

Von Emil Chr. Hansen.

Es gibt gewisse Fragen, auf welche im Laufe der Zeit die Gärungsphysiologie und Gärungschemie immer wieder zurückgekommen sind. Unter diesen Fragen ist auch die, ob ein und dieselbe Hefeart sowohl mit Unterhefe- als mit Oberhefeform auftreten kann oder ob jede dieser Formen an ihre bestimmte Art geknüpft ist. Bei den älteren Autoren wurde die Umwandlung von Oberhefe in Unterhefe und umgekehrt gewöhnlich als ein leichtes dargestellt. Nachdem aber die exakte Forschung mit der absoluten Reinzucht als Ausgangspunkt die diesbezüglichen Untersuchungen aufgenommen hatte, stellte es sich immer wieder heraus, daß die Angaben betreffs der Methoden, nach welchen die Umwandlung der einen Hefeform in die andere angeblich stattfand, ganz unrichtig waren. Entgegengesetzte Ansichten haben sich jedoch noch bis heute fortwährend in der Fachliteratur geltend gemacht.

In meinen Publikationen aus dem Anfange der 80er Jahre finden sich Untersuchungen über die genannten Gärungserscheinungen und in einer meiner Abhandlungen aus dem Jahre 1886 (Compt. rend. des travaux du laborat. de Carlsberg. T. II. Livr. 4. p. 130) gab ich eine Mitteilung darüber, wie bei Versuchen mit reingezüchteten Unterhefen Obergärungserscheinungen hervortreten konnten, welche jedoch nach wenigen Züchtungen wieder verschwanden, und ferner wie typische Oberhefe durch mehrere Generationen sich als Unterhefe zeigen konnte. Das Ganze hatte jedoch den Charakter nur vorübergehender Abänderungen.

Schon im Sommer 1884, ungefähr ein Jahr nachdem ich die Reinzüchtung in der Brauerei Alt-Carlsberg durchgeführt hatte, hatte ich im Verein mit dem Direktor dieser Brauerei, Herrn Kapitän Kühle, einen Fall beobachtet, wo einige Proben von Carlsberg-Unterhefe No. 2, welche teils in Bier, teils in Würze und teils auch als abgewässerte Preßhefe einige Wochen hindurch in einem der Eisbehälter der Brauerei aufgehoben worden waren und sodann zur Würze in einem Gärkeller gesetzt wurden, sogleich eine hitzige Gärung mit Obergärungserscheinungen erregten; auch hier konnten wir aber konstatieren, daß die Vegetation schnell zu ihrem Ausgangspunkte zurückkehrte.

Hierher gehören auch die Versuche Hennebergs mit einer Dortmunder Bier-Unterhefe (Wochenschr. f. Brauerei. 1900. p. 633). Dieselbe hatte seit beinahe einem Jahre zur Zufriedenheit im Betriebe gearbeitet, begann aber dann obergärrige Erscheinungen zu zeigen. Die Hefe näherte sich in der Schaum- und Bodensatzbildung den obergärrigen Hefen. Henneberg isolierte 15 Zellen aus der ursprünglichen Reinkultur und stellte damit Versuche an. Die daraus entwickelten Vegetationen verhielten sich sämtlich wie oben beschrieben; über das Verhalten der übrigen großen Masse berichtet der Verf. nichts und auch

nichts über die Ursache der beobachteten Erscheinung. Will gab in Kochs Jahresbericht ein Referat über diese Untersuchung und äußerte die Ansicht, daß typische Obergärungserscheinungen hier jedenfalls nicht vorliegen; er weist darauf hin, daß eine zu intensive Lüftung der Würze in den Propagierungsapparaten an den abnormen, einer Obergärung ähnlichen Erscheinungen mit Schuld tragen könnte. Im folgenden Jahre teilt P. Lindner in der genannten Wochenschrift mit, daß mehrere von den Brauereien, in welchen die erwähnte Hefe in Anwendung war, nunmehr ihre Zufriedenheit mit derselben äußerten, indem sie nämlich schnell in den normalen Zustand zurückgekehrt war und danach durch zahlreiche Gärungen keine Variierung mehr zeigte. In den betreffenden Brauereien wurde mit Reinzuchtapparaten gearbeitet. Hier liegt also eine ähnliche Beobachtung, wie meine oben beschriebenen, vor. Die Anschauung war jetzt allgemein geworden, daß auf diesem Gebiete keine wirkliche Umwandlung, sondern höchstens nur eine rein vorläufige, scheinbare Umbildung stattfindet. Die Oberhefen wurden als selbständige Kategorie betrachtet, welche den Gegensatz zu den Unterhefen bilden. Ueber den wirklichen Sachverhalt war man noch bei weitem nicht im klaren.

Die Untersuchungen, welche ich in den Jahren 1888 und 1889 über die Variierung bei der Carlsberg-Unterhefe No. 1 und *Saccharomyces Ludwigi* vornahm, haben in die vorliegenden Fragen einige Klarheit gebracht. Wir sahen hier, wie aus einer Zelle mehrere Kategorien entspringen, bei der erstgenannten Art in Beziehung auf die Form, bei der letzteren in Hinsicht auf die Sporenbildung; ferner, wie diese Kategorien teils auf den Ausgangspunkt zurückgehen können, teils, jedenfalls eine Zeitlang, konstant bleiben. Es wird dadurch die Vermutung nahegelegt, daß ein gleiches wohl der Fall gewesen ist nicht nur in den von Henneberg beschriebenen Fällen, sondern auch in den von mir in meiner Abhandlung aus dem Jahre 1886 erwähnten Beobachtungen bei Ober- und Unterhefen. Selbst wenn wir vorläufig die Frage nach den Faktoren, welche die in Rede stehende Variierung in Bewegung gesetzt haben, beiseite lassen, so ist es doch gleichwohl eine verwickelte Sache, die Variation richtig zu deuten. Hierzu ist eine außerordentlich große Anzahl von Vegetationen, jede von einer einzigen Zelle abstammend, bei lange fortgesetztem Züchten unter vielfach variierten Verhältnissen erforderlich; einige wenige Versuche anzustellen, wird erfolglos sein. Vor allem müssen wir uns jedoch darüber klar sein, was wir unter den beiden in Rede stehenden Erscheinungen, Ober- und Untergärung, zu verstehen haben. Die Beschreibungen derselben in den chemischen und gärungsphysiologischen Hand- und Lehrbüchern sind nicht nur unklar, sondern auch mehr oder minder unrichtig. Als Unterschied wird angegeben, daß bei der Obergärung die Hefe während der Gärung zur Oberfläche der Flüssigkeit emporsteige und sich hier ablagere, was bei der Untergärung nicht der Fall sei; bei letzterer dagegen setzt die Hefe sich angeblich sämtlich am Boden ab. In Wirklichkeit verhält es sich jedoch so, daß typische Unterhefenarten einige — wenngleich bei weitem nicht so viele — Zellen nach oben steigen lassen, während umgekehrt typische Oberhefenarten auch einen Hefebodensatz bilden.

Um bestimmte Ausdrücke für die beiden Erscheinungen zu finden, habe ich eine Reihe spezieller Versuche angestellt.

Im praktischen Betriebe wurden die genannten Erscheinungen zu-

erst beobachtet und der Praxis entstammen unsere diesbezüglichen Vorstellungen; hier müssen wir also den Ausgangspunkt für unsere Bestimmungen nehmen. Nicht nur für den Praktiker, sondern sogar für den Ungeübten ist es leicht, zu entscheiden, ob eine Gärung in einer Brauerei Unter- oder Obergärung ist; es zeigt sich gleich hier, daß wir zwei deutlich gesonderten Gärungserscheinungen gegenüberstehen; wenn aber die Frage im Laboratorium, wo wir mit kleinen Kulturen arbeiten, gestellt wird, dann stellen sich Schwierigkeiten ein, wenn wir darauf nicht besonders Rücksicht nehmen. In den in den Laboratorien üblichen Freudenreich-Kölbchen tritt die Obergärungserscheinung meist gar nicht hervor; manchmal auch nicht im zweihalsigen Pasteur-Kolben.

Auch die Art der zu vergärenden Flüssigkeit hat große Bedeutung. Kurz, wir müssen unsere Laboratoriumsversuche nach Maßgabe der in den Brauereien bestehenden Verhältnissen einrichten. Deshalb bedienen wir uns gehopfter Bierwürze (eine Stärke von 13–14 Proz. Ball. ist geeignet), und als „Gärbottiche“ benutzen wir hohe Gläser: Cylindergläser von 25 cm Höhe und 5 cm Durchmesser oder Reagenzgläser von 165 mm Höhe und 22 mm Durchmesser. Das gewählte Glas wird zu drei Vierteln mit der Würze gefüllt und die Mündung mit einem nicht zu festen, baumwollenen Stöpsel verschlossen. Um mit größerer Sicherheit arbeiten zu können, empfiehlt es sich, eine Haube von Zinn, Filtrierpapier oder einem sonstigen geeigneten Stoff darauf zu setzen. Bei den im nachfolgenden beschriebenen Versuchen wurden Hauben von Zinn (Flaschenkapseln) benutzt. Dieselben dürfen nicht dicht schließen. Reagenzgläser mit zugeschliffener Glashaube, wie bei den Freudenreich-Kolben, sind ausgezeichnet, verursachen aber eine große Auslage, wenn man, wie in den nachfolgenden Analysen, mit einigen Tausenden arbeiten muß. Die Hefenarten, welche unter solchen Umständen Gärungserscheinungen, wie die in den Obergärungsbrauereien beobachteten, geben, nennen wir Oberhefen, und diejenigen, welche Gärungserscheinungen, wie jene der Untergärungsbrauereien zeigen, bezeichnen wir als Unterhefen. Zur Aussaat benutzen wir zwei wohlbekannte Hefenarten der Brauereipraxis, welche überdies in den meisten gärungsphysiologischen Laboratorien vorrätig sind, nämlich die Oberhefe *Saccharomyces cerevisiae* (Syn. *S. cerevisiae* I) und die untergärrige Hefe Carlsberg-Unterhefe No. 1<sup>1)</sup>. *Saccharomyces cerevisiae* ist eine alte Oberhefe, welche wahrscheinlich seit Jahrhunderten in den englischen und schottischen Brauereien angewendet wurde. Sie ist ein wirklicher Typus für die Obergärung. Wir haben also nun die Erscheinungen, welche sie uns zeigt, zu untersuchen. Die Züchtung kann teils bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, teils auch bei 25° C ausgeführt werden. Im letzteren Falle hat es sich als praktisch erwiesen, die Kultur bei der genannten hohen Temperatur stehen zu lassen, bis der Gärungsschaum sich bildet, was bei einigermaßen reichlicher Aussaat einer jungen, kräftigen Vegetation gewöhnlich in ca. 24 Stunden erreicht ist. Dann läßt man sie bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stehen; die Erscheinung tritt dann stärker hervor, als es der Fall sein würde, wenn die Kultur die ganze Zeit hindurch bei 25° C stehen ge-

1) Diese und auch die übrigen in gegenwärtiger Abhandlung erwähnten Arten sind in meinen früheren Schriften beschrieben. Betreffs der neuen Namen siehe meine „Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten“. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 529.)

lassen würde. Die hohe Flüssigkeitssäule und die Lüftung der Würze in Verbindung mit einer nicht zu niedrigen Temperatur und einer reichlichen Aussaat befördern die Entstehung der Erscheinung. Die beiden hervorgehobenen Bedingungen sind die wichtigsten. Der Schaum besteht zumeist aus sehr kleinen Blasen und bei starker Beleuchtung wird man schon im Anfange der Gärung beobachten können, daß nicht nur die Bläschen, sondern auch die Zwischenräume zwischen ihnen mit einer dünnen Schicht Hefe bedeckt sind. Nach reichlicher Aussaat zeigt sich bereits nach 3-tägigem Stehen bei der Zimmertemperatur eine zusammenhängende, glänzende, dicke Hefeschicht, welche die gesamte Schaumdecke überzieht. Diese Hefeschicht preßt sich an die Wand des Glases in Form eines mehr oder weniger dicken, schleimigen Ringes, welcher sich über die Hefeschicht, der er entstammt, emporhebt. Hat man nur eine sehr geringe Aussaat vorgenommen, so findet man zu diesem Zeitpunkt nur eine dicke Schaumschicht. In solchen Kulturen tritt die Gärung gewöhnlich erst nach ca. 5 Tagen deutlich hervor; aber nach 7 Tagen werden auch diese Kulturen die beschriebene dicke Hefeschicht, welche die darunter befindliche Schaumschicht überdeckt, aufweisen. Nach und nach schwindet die Schaumschicht und ein Teil der Hefe sinkt zu Boden; jedoch auch nachdem dieses Stadium eingetreten ist, bleiben dicke Hefemassen auf der Oberfläche der Flüssigkeit und an den Wandungen des Glases bemerkbar. Wie wir gesehen haben, erscheint die beschriebene Heferingbildung in den ersten Stadien der Gärung; dieselbe stellt einen besonders wichtigen Charakter für die Obergärung vor.

Carlsberg-Unterhefe No. 1 bringt unter den beschriebenen Umständen ebenso schnell die Flüssigkeit in Gärung. Der Schaum ist gewöhnlich mehr großblasig und weniger dick. In den ersten Gärungsstadien vermag man mit dem bloßen Auge keine Hefe an oder zwischen den Blasen zu entdecken. Eine Untersuchung des Schaumes unter dem Mikroskope zeigt denn auch, daß derselbe nur wenige Zellen enthält. Dagegen sind Ausscheidungen aus der Würze ebenso ausgiebig hier wie bei der Oberhefe; diese Ausscheidungen, welche oft eine braune Färbung zeigen, können sich ebenfalls an der Wand des Glases absetzen und die Bildung eines Ringes hervorrufen; aber auch in diesem befinden sich sehr wenige Hefezellen. Derselbe ist im Gegensatz zur Ringbildung bei den Oberhefen sehr dünn; gegen das Ende der Hauptgärung bersten die Blasen und die Ringbildung erscheint nunmehr in Form einer trockenen, dünnen Haut, in welcher Ausscheidungen aus der Würze und verhältnismäßig wenige Hefezellen wahrnehmbar sind. Auch treten solche makroskopisch erkennbare Hefemassen, wie bei der Obergärung, nicht auf der Oberfläche der Flüssigkeit auf. Der schleimige Ring an der Wand des Glases und die dicken, schleimigen Hefeschichten auf der Oberfläche der Flüssigkeit fehlen hier.

Unter den beschriebenen Züchtungsverhältnissen macht sich also ein ziemlich auffälliger Unterschied zwischen den beiden Gärungserscheinungen bemerkbar. Wer diesbezügliche Versuche unternehmen will, wird zuvor eine vorläufige Prüfung, wie die oben beschriebene, anstellen müssen. Ich habe eine solche nicht allein mit den beiden genannten Arten ausgeführt, sondern ebenfalls mit den meisten anderen, in meinen Schriften besprochenen Ober- und Unterhefen, ferner mit Rasse II (Institut für Gärungsgewerbe Berlin), mit einer in dänischen Obergärungsbrauereien benutzten Art und mit einer Oberhefe aus der

Brauerei Guinness in Dublin. Die oben angegebenen, aus der Praxis bekannten Merkmale wiederholten sich, nur mit dem Unterschiede, daß sie bei einigen ein wenig langsamer und nicht so kräftig hervortraten, als oben beschrieben. Unter Umständen muß man mehrere Züchtungen anstellen, um eine deutliche Obergärung zu bekommen. Die mikroskopischen Merkmale, auf die mehrere Autoren großen Wert legen, erwiesen sich als durchaus nicht stichhaltig. — Auf diese und verschiedene andere Verhältnisse werde ich in der ausführlichen Abhandlung, welche ich später zu publizieren gedenke, näher eingehen.

Wie man sich erinnern wird, trat die oben erwähnte Variation bei der Carlsberg-Unterhefe No. 2 unter solchen Verhältnissen hervor, daß die Annahme nahe gelegt wurde, die niedrige Temperatur (wohl ungefähr  $\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$ ) sei dabei wirksam gewesen. Diese Beobachtung bildete nun einen Ausgangspunkt für meine neuen Versuche. Mit dem Namen Carlsberg-Unterhefe No. 2 hat man in den Brauereien Alt- und Neu-Carlsberg mehrere Bierhefenarten bezeichnet, welche ich im Laufe der Zeit in diese Betriebe eingeführt habe. Die genannte Hefeart existiert indes nicht mehr; ich wählte daher eine der anderen in Rede stehenden Unterhefenarten, welche, wie dies meine vorerwähnten Beobachtungen ergeben hatten, jedenfalls eine Zeitlang Obergärungserscheinungen zeigen konnten. Von dieser Art, *Saccharomyces turbidans* (Syn. *Sacch. ellipsoideus* II), wurde in bekannter Weise eine junge, kräftige Vegetation erzeugt, welche Untergärungserscheinungen zeigte. Eine geringe Spur von dieser Hefe wurde in einige Freudenreich-Kölbchen, welche eine dünne Schicht von Bierwürze enthielten, gebracht und bei  $\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$  stehen gelassen. Nach Ablauf von 3 und von 5 Monaten gelangten die Kulturen zur Untersuchung. Es war dann keine Entwicklung makroskopisch erkennbar; auf mikroskopischem Wege konnte jedoch mit Sicherheit konstatiert werden, daß eine deutliche, wenngleich nur schwache Vermehrung stattgefunden hatte. Durchschnittsproben, welche aus den Freudenreich-Kölbchen in die oben beschriebenen Reagenzglaskulturen mit Würze ausgesät wurden, gaben immer wieder deutliche Obergärungserscheinungen, und daß nunmehr die Zellen sämtlich oder jedenfalls zum größten Teile obergärige geworden waren, mußte ich aus der Beobachtung schließen, daß in Proben, welche mit 150 Zellen angestellt wurden, keine einzige Zelle nachgewiesen werden konnte, welche Untergärung gab. Es war nun die Frage, ob bei der Einwirkung der niedrigen Temperatur die Zellen eine Umwandlung erfahren hätten oder nicht.

Um hierüber Klarheit zu erlangen, unternahm ich eine Analyse der Vegetation, welche ich zur Züchtung bei  $\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$  benutzt hatte. Ein Versuch mit 100 Zellen ergab, daß die Hälfte derselben Obergärung, die andere Hälfte Untergärung erregte. Von jeder der beiden Kategorien wurde auf dieselbe Weise wie früher eine Reihe Kolben, enthaltend dünne Würzeschichten, infiziert und bei der genannten niedrigen Temperatur stehen gelassen. Das Resultat war, daß es nach 3–4 Monaten nicht möglich war, in den mit den untergärigen Zellen beschickten Kolben eine Vermehrung zu entdecken, wogegen eine solche in den mit den obergärigen Zellen beschickten deutlich erkennbar war. Die Inhalte der Kolben der beiden Kategorien wurden dann zur Züchtung in den Reagenzröhren verwendet; die ersteren gaben wieder Untergärung, die letzteren wieder eine deutliche Obergärung. Bei dem oben geschilderten Versuche hat folglich nur eine Auserwählung der Zellen, aber nicht eine Umbildung stattgefunden.

*Sacch. turbidans* war, als ich im Jahre 1883 eine Beschreibung dieser Art gab, eine untergärrige Hefe. Die Vegetation, mit welcher die geschilderten Versuche gemacht wurden, stammte von einer Würzekultur ab, welche eine Zeit im Laboratorium gestanden hatte. Auch andere alte Kulturen dieser Art enthielten eine große Anzahl obergärriger Zellen. Die beiden Kategorieen werden seit beinahe einem Jahre in Reinkultur gezüchtet. In diesem Zeitraume wurden zahlreiche Generationen erzeugt. Die Oberhefevegetationen sind Oberhefe, die Unterhefevegetationen sind Unterhefe geblieben. Aus einer der Oberhefevegetationen wurden zwecks Probe in den Reagenzröhren 1000 Zellen isoliert; dieselben gaben sämtlich Obergärung. Eine entsprechende Probe mit einer der Unterhefevegetationen gab ein vollkommen entsprechendes Resultat: Sämtliche ausgeschiedene Zellen erwiesen sich als untergärrige. Beide Kategorieen haben sich bisher konstant erhalten, selbst wenn die Züchtung von untergärrigen Zellen unter Verhältnissen vorgenommen wurde, welche Obergärungserscheinungen hervorzurufen geneigt sind, und wenn obergärrige Zellen unter solchen Verhältnissen, welche der Entstehung von Untergärungserscheinungen förderlich sind, gezüchtet wurden.

Bei der oben genannten Art hatte ich, wie erwähnt wurde, schon vor mehreren Jahren Schwankungen beobachtet, welche sie dem Obergärungsstadium näherten. Für meinen zweiten Versuch wählte ich daher gerade eine Art, bei welcher keine solchen Schwankungen beobachtet worden waren, welche vielmehr allgemein als typische Untergärungsform angesehen wird, nämlich den von Aderhold und Wortmann in verschiedenen Beziehungen untersuchten und zuerst beschriebenen Weinhefepilz *Johannisberg II*. Auch in meinen Schriften finden sich an mehreren Stellen Mitteilungen über Untersuchungen, welche ich über diesen Pilz angestellt habe. Bei meinen diesbezüglichen Versuchen nahm ich im Anschluß an die oben beschriebenen Versuche über *Sacch. turbidans* meinen Ausgangspunkt von alten Kulturen. Es zeigte sich, daß die Vegetationen derselben nicht selten über 70 Proz. obergärrige Hefezellen enthielten. Obergärungserscheinungen traten in den meisten Fällen nicht so stark hervor wie bei *Sacch. turbidans*, waren aber doch deutlich genug. Auch bei *Johannisberg II* isolierte ich sowohl Ober- als Unterhefezellen, deren Vegetationen durch zahlreiche Züchtungen konstant blieben. Dieselben wurden in einigen Fällen 6 Monate hindurch fortgesetzt. Einer Vegetation aus jeder der beiden Kategorieen wurden ebenfalls bei dieser Art 1000 Zellen entnommen, und mit diesen, jede für sich, wurden Gärungsversuche angestellt. Bei den letzteren stellte sich heraus, daß die geprüfte Unterhefevegetation nur untergärrige, die Oberhefevegetation nur obergärrige Zellen enthielt; das Ergebnis entsprach somit jenem, welches mein Versuch mit *Sacch. turbidans* gebracht hatte.

Die Bewegung von Untergärungsform zu Obergärungsform scheint leichter vor sich zu gehen, als die umgekehrte; jedenfalls deuten die von mir bisher ausgeführten Untersuchungen darauf hin. Ich werde nun hier das Resultat einiger Versuche mit *Sacch. validus* (Syn. *Sacch. Past. III*) mitteilen. Dies ist bekanntlich eine Art, welche stets als typische Oberhefeform angesehen wurde. Mehrere ältere und jüngere Vegetationen wurden einer sorgfältigen Untersuchung unterzogen, aber nur in einer einzigen fand ich einige wenige Untergärungszellen, nämlich 3 unter 100. Die aus ihnen hervorgebrachten Vege-



tationen wurden im Laufe von 2 Jahren zahlreichen Züchtungen unterworfen unter Verhältnissen, welche der Entstehung von Obergärungserscheinungen günstig sind, sie verhielten sich aber trotzdem fortwährend als Unterhefe.

Die im vorhergehenden beschriebenen, mit den drei Arten angestellten Versuche sind alle mit Bodensatzhefezellen ausgeführt worden. In den Versuchen mit ihren Hautzellen zeigte es sich, daß die Unterhefezellen eine Hautform bilden, welche wieder Untergärung hervorruft, und daß die Oberhefezellen eine Hautform bilden, die wieder Obergärung gibt. Von dem Verhalten der Sporen zu den in der vorliegenden Abhandlung besprochenen Variationsbewegungen werde ich erst in der nächsten Abhandlung mich aussprechen können.

Bei den hier erwähnten Analysen sind mir meine Assistenten, die Herren Klöcker und Schiöning, in bester Weise an die Hand gegangen, und spreche ich ihnen auch an dieser Stelle meinen Dank aus.

Die eingangs dieser Abhandlung gestellte Hauptfrage, ob die beiden physiologischen Formen, die Ober- und Unterhefeform, selbständig sind oder ob eine sich aus der anderen entwickeln kann, hat also die Beantwortung erhalten, daß letzteres der Fall ist. In einer Reinkultur von der Unterhefeform können sich Oberhefezellen, in einer Reinkultur von der Oberhefeform Unterhefezellen bilden. Die beiden Formen, in welche sich die Art so zerspaltet, können lange Zeit hindurch in demselben Nährsubstrat nebeneinander fortleben. Gewöhnlich ist dann wohl eine der beiden Formen im Uebergewicht vorhanden, und es hat dann den Anschein, als ob die Art nur aus dieser Form allein bestände. Es kann auch vorkommen, daß nur die eine Form vorhanden ist; wir haben dann eine reine Ober- bzw. Unterhefe. Die verschiedenen Kategorien der Art führen gegenseitig einen fortwährenden Kampf miteinander. Dieses gilt auch von dem vorliegenden Falle. Bei den obenbeschriebenen Versuchen mit *Sacch. turbidans* bei  $1\frac{1}{2}^{\circ}$  sahen wir, wie die Oberhefeform sich auf Kosten der Unterhefeform ausbreitete, um diese endlich zu unterdrücken. Dieses ist nun nicht in der Weise zu verstehen, als ob die genannte Temperatur eine scharfe Grenze zwischen den beiden Formen bildete; in Wirklichkeit ist es nur eine dem Minimum für die Vermehrung beider sehr naheliegende Temperatur; nur ist sie etwas weniger ungünstig für die Ober- als für die Untergärungsform.

Was die Faktoren angeht, welche die Entstehung der beschriebenen Variationen bewirken, so kann ich darüber noch nicht bestimmte Angaben machen. Wie die Erscheinung im Augenblicke steht, müssen wir sie wohl zunächst derjenigen Gruppe von Variationen beizählen, welche in jüngster Zeit Hugo de Vries als Mutationen bezeichnet hat. Wenn wir auch die beiden anderen oben besprochenen Variationserscheinungen, die plötzlich und ohne erkennbare Ursache auftretende Abänderung der Gestalt und des Sporenbildungsvermögens der Zellen, rubrizieren wollten, so müßten wir dieselben wohl ebenfalls zunächst der nämlichen Gruppe zuzählen.

Die Asporogenie kann, wie ich dargetan habe, auch durch den Einfluß hoher Temperaturen bewirkt werden; hier ist ein bestimmter äußerer Faktor wirksam, und als Resultat geht eine Transformation hervor. Es besteht im Augenblicke eine Neigung, eine jede Varietät, welche einige Konstanz zeigt, als einen Mutanten anzusehen. Auch die sporenlosen *Saccharomyces*-Varietäten, welche ich durch Be-

handlung der Zellen bei hohen Temperaturen dargestellt habe, sind von einigen Autoren als solche Mutanten aufgefaßt worden. Für diese Variation ist eine solche Deutung jedoch nicht zutreffend. Dieselbe wird durch die Einwirkung eines bestimmten äußeren Faktors hervorgerufen, und zwar bei einer jeden Zelle.

Durch die gesamte Versuchsanordnung habe ich dies dargetan. Meinen Ausgangspunkt nahm ich nicht allein von einer beliebigen vegetativen Zelle oder Spore, sondern zugleich von einer solchen, die eine Vegetation gründete, in welcher auch nicht das geringste Anzeichen von asporogenen Zellen erkennbar war. Die asporogenen Zellen, welche nach der Behandlung erscheinen, müssen folglich durch eben diese Behandlung hervorgerufen sein. Zu bemerken ist auch, daß die konstante sporenlose Varietät nicht wie die Mutanten gleich auf einmal hervorsprang, sondern sich nach und nach bildete. Endlich sei nochmals hervorgehoben, daß die Variation mit Sicherheit mit jeder Zelle sich durchführen läßt, gleichgültig, welche von diesen man zum Ausgangspunkt nimmt. Kurz, diese Variation bietet sämtliche Merkmale der Transformation. Im übrigen verweise ich auf meine oben angeführte Abhandlung vom Jahre 1889, sowie, was die Methoden betrifft, auf die ausführliche Abhandlung in der zitierten Zeitschrift des Carlsberg Laboratorium. Bd. V. Heft 1.

Von einer einzelnen Seite ist die Ansicht geäußert worden, daß die sporenlose Varietät bloß auf eine vorläufige Abschwächung zurückzuführen sei. Gegen diese Ansicht läßt sich aber namentlich einwenden, daß die Zellen ein kräftiges Vermehrungsvermögen besitzen und sich noch nach dem Verlauf von 17 Jahren konstant sporenlos erhalten haben. Ueberdies kann eine Transformation sich ebensowohl durch den Verlust einer Eigenschaft wie durch die Erwerbung einer neuen Eigenschaft bekunden.

Um nicht mißverstanden zu werden, muß ich hier hinzufügen, daß die von mir vertretene Auffassung am Ende mehr Anhänger als Gegner gefunden hat.

Die Angriffe, welche gegen meine soeben besprochenen Untersuchungen über Variation und Erbllichkeit gerichtet wurden, sind jedenfalls teilweise auf den Umstand zurückzuführen, daß man sie mit den Untersuchungen über *Bacillus anthracis* zusammengewürfelt hat. Bisher habe ich auf diese Angriffe noch nicht Antwort gegeben, ergreife aber hier die Gelegenheit, um dieselben zu widerlegen. Der Nachweis, daß der genannte *Bacillus* wenigstens durch einige Generationen sein Sporenbildungsvermögen einbüßen kann, nämlich, wenn die Zellen der Einwirkung von Karbolsäure oder doppeltchromsaurem Kali ausgesetzt werden, wurde, wie bekannt, zuerst von Pasteurs Mitarbeitern, Chamberland und Roux, erbracht. Da es sich später zeigte, daß dieses Vorgehen keine Sicherheit gewähren konnte, bediente sich Phisalix meiner oben erwähnten Methode und erzielte hierdurch eine sporenlose Varietät, welche unter gewissen Züchtungsverhältnissen bestehen blieb. Die Chamberland-Roux'sche Methode war also ganz verschieden von der meinigen, und Phisalix nahm zwar meine Methode auf, wendete sie aber auf einen Mikroorganismus an, welcher zu einer ganz anderen Gruppe gehört als der der Gattung *Saccharomyces*. Das Resultat fiel auch teilweise anders aus; vollkommene Konstanz wurde nicht erreicht, und es scheint denn auch, als wenn es bei seinen Versuchen sich zunächst um eine Abschwächung handelte. Die französischen For-

scher und ihre Nachfolger verfolgten nur den Zweck, nachzuweisen, daß *Bacillus anthracis* als sporenlose Varietät auftreten könne, und ihre Untersuchungen geben gar keinen Aufschluß über die Frage, ob eine Umbildung oder nur eine Auserwählung, eine Begünstigung von bereits zuvor in der behandelten Vegetation vorhandenen sporenlosen Zellen stattfindet; eine diesbezügliche Frage stellten sie überhaupt gar nicht. In dieser Beziehung besteht also ein wesentlicher Unterschied zwischen meinen Versuchen mit den *Saccharomyces*-Arten und andererseits jenen der oben genannten Forscher mit *Bacillus anthracis*.

Kopenhagen, Carlsberg Laboratorium, August 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über den Verlauf der Stickstoffumsetzungen in der Ackererde <sup>1)</sup>.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. F. Löhnis.

Dank der Bemühungen zahlreicher Forscher ist zwar bereits ein ziemlich guter Ueberblick über die Morphologie und Physiologie der an den verschiedenen Stickstoffumsetzungen im Boden beteiligten Mikroorganismen erreicht, dagegen ist die Zahl derjenigen Untersuchungen noch sehr gering, die darauf abzielen, festzustellen, in welcher Weise die Beschaffenheit und Bearbeitung des Bodens, die Witterung, die Düngung und der Pflanzenbestand des Feldes Vorkommen und Wirksamkeit der Stickstoffbakterien in der Ackererde beeinflussen. Um einen Beitrag zur Klärung dieser für die Landwirtschaft höchst wichtigen Fragen zu liefern, wurden in folgenden drei Richtungen Beobachtungen angestellt:

1) Durch Impfung zweckentsprechend zusammengesetzter Lösungen mit 10 Proz. Erde wurde während eines Jahres der Einfluß von Jahreszeit, Witterung und Bodenbearbeitung auf den Verlauf folgender sechs Stickstoffumsetzungen ermittelt. Die Untersuchung erstreckte sich auf die Ammoniakbildung aus Knochenmehl, Kalkstickstoff und Harnstoff, die Salpeterbildung, Salpeterzersetzung und Stickstoffassimilation.

2) Auf dem Felde wurde durch entsprechende Versuche die Einwirkung der verschiedenen Bodenbearbeitung und Stickstoffdüngung auf das Ernteergebnis festgestellt.

3) Die an den verschiedenen Umsetzungen vorwiegend beteiligten Bakterien wurden isoliert und in Bezug auf ihre Fähigkeiten geprüft.

### Untersuchungsmethoden.

Da naturgemäß direkte chemische Analysen der Ackererde nicht die gewünschten Aufschlüsse hätten vermitteln können, so konnte nur ein Verfahren in Anwendung kommen, das geeignet ist, Anhaltspunkte über das Vorhandensein und die Tätigkeit der an den verschiedenen Stick-

1) Habilitationsschrift; S.-A. aus d. Mitteil. d. landw. Instituts d. Universität Leipzig. Heft 7. p. 1—103. Mit 1 Kurventafel.

stoffumsetzungen beteiligten Mikroorganismen zu liefern. Daß Bakterienzählungen irgend welcher Art für diese Zwecke nicht brauchbar sind, wurde in früheren Arbeiten<sup>1)</sup> dargelegt. Es konnten im vorliegenden Falle nur Umsetzungsversuche in Lösungen mit relativ reichlicher Erdimpfung (10 Proz. nach Remy) in Frage kommen, da Erdversuche (Tränken größerer Erdmengen mit spezifischen Lösungen) sich nicht nur wegen der größeren Umständlichkeit weniger empfehlen, sondern überhaupt, da es sich auch um die Feststellung des Einflusses einer bestimmten Art der Bodenbearbeitung handelte, nicht anwendbar erschienen. Die Gründe, weshalb ich mich für die Verwendung von Bodenextrakt als Ausgangsmaterial für die verschiedenen Lösungen und von 10 Proz. Erde zur Impfung entschied, habe ich ebenfalls früher in diesem Blatte<sup>2)</sup> ausgeführt.

Die Zusammensetzung der benutzten Lösungen wurde derart gewählt, daß die Umsetzungen weder zu rasch, noch zu langsam verliefen. Frühestens nach 1 Woche, spätestens innerhalb 4 Wochen durfte bezw. mußte eine deutlich nachweisbare Umsetzung stattgefunden haben. Es wurde dem Bodenextrakt in der Regel 0,5‰  $K_2HPO_4$  hinzugefügt; nur für die phosphatreiche Knochenmehllösung unterblieb dieser Zusatz. Außerdem kam in Anwendung pro 100 ccm:

für den Knochenmehlversuch	0,6	g Knochenmehl mit	5,22 Proz. N
" " Kalkstickstoffversuch	0,2	" Kalkstickstoff	" 17,10
	+ 0,01	" Asparagin + 0,01 g Traubenzucker <sup>3)</sup>	
" " Harnstoffversuch	5	" Harnstoff	
" die Nitrifikation	0,1	" $(NH_4)_2SO_4$ und Kreide	
" Denitrifikation	0,2	" $NaNO_3$ + 1 g Traubenzucker	
" " Stickstoffassimilation	1	" Mannit	

Der Verlauf der Umsetzungen wurde stets durch quantitative Bestimmungen verfolgt, und zwar wurde der Ammoniakstickstoff durch Destillation mit Magnesia usta, der Salpeterstickstoff nach Reduktion in alkalischer Lösung mit Zink und Eisen als Ammoniak und der Gesamtstickstoff nach Kjeldahl-Wilfarth ermittelt<sup>4)</sup>.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. p. 262, 448; Bd. XIV. p. 1.

2) l. c. Bd. XII. p. 262, 448.

3) Ueber die Notwendigkeit des Asparagin-Traubenzuckerzusatzes zur Kalkstickstofflösung habe ich mich in meiner Arbeit über die Kalkstickstoffzersetzung, l. c. Bd. XIV. p. 87, ausgesprochen.

4) Im Hinblick auf die Ausführungen Ehrenbergs in No. 4/6 des XV. Bandes dieses Blattes habe ich hier nachträglich zu bemerken, daß zur Ermittlung des Gesamtstickstoffs die Lösungen einschließlich der Erde verbrannt wurden, wie auf der von Ehrenberg (l. c. p. 158) selbst zitierten p. 11 meiner Arbeit gesagt ist. Seine Meinung, daß es nicht unwahrscheinlich sei, daß ich den Gesamtstickstoff nur in der filtrierten Lösung bestimmt hätte, hätte demnach der entsprechenden Korrektur bedurft. Die Verluste an Gesamtstickstoff, die sich nach sechswöchentlicher Aufbewahrung in der an Stelle der Peptonlösung verwendeten Knochenmehllösung regelmäßig ergaben, hatten, soweit dies kontrolliert wurde, in Ammoniakverdunstung ihre Ursache (p. 32 meiner Arbeit). Ebenso hätte Ehrenberg aus meinen Darlegungen ersehen können, daß ich dort, wo es nötig war (bei der Harnstoffzersetzung), allerdings der Wasserverdunstung Rechnung getragen habe, während dies bei den anderen Umsetzungen der Einfachheit halber unterbleiben konnte, da es sich bei derartigen Untersuchungen, wie ich wiederholt betonte, nur um Vergleichswerte handelt. Ferner habe ich, trotzdem es eigentlich selbstverständlich ist, ausdrücklich bemerkt, daß die Stickstoffzahlen für die Knochenmehl- und Kalkstickstofflösung, die ich für die Ermittlung der zu Vergleichszwecken nötigen Prozentwerte brauchte, nur als konstant angenommen wurden. Tatsächlich schwankten sie naturgemäß ebenso wie die Stickstoffwerte der Erdproben. Die 1–1½ mg betragenden Differenzen, die sich für die Gesamtstickstoffzahlen der verschiedenen Versuchsreihen ergaben, verteilen sich auf 20–24 mg Gesamtstickstoff,

Völlige Sterilität der Geräte, die zur Entnahme und zum Abwägen der Bodenproben bzw. zum Abpipettieren der zur Untersuchung benötigten Flüssigkeitsmengen benutzt wurden, sowie der verwendeten Lösungen wurde bei den mittels Erdimpfung eingeleiteten Umsetzungsversuchen aus naheliegenden Gründen nicht angestrebt. Die Lösungen wurden jedesmal unmittelbar vor dem Gebrauch fertiggestellt und so gut als möglich sterilisiert; bei den verschiedenen Manipulationen wurde auf rasches und sauberes Arbeiten geachtet, von überflüssigen Umständlichkeiten aber Abstand genommen.

Die Erdproben wurden jedesmal an zwei Stellen der betreffenden Teilstücke aus ca. 10 cm Tiefe entnommen. Die Impfung erfolgte stets möglichst bald nach der Entnahme der Bodenproben. Durchaus nötig scheint dies übrigens bei der befolgten Methode nicht zu sein. Wenigstens zeigten mir einige gelegentliche Beobachtungen, daß die Resultate der Umsetzungsversuche die gleichen blieben bzw. nur eine relativ geringe Aenderung erfuhren, als die betreffenden Versuche teils sofort, teils nach 4 Wochen, zum Teil auch erst 4½ Monate nach der Probenahme in Gang gebracht wurden.

Die Aufbewahrung der Versuchskolben geschah stets im Halbdunkel bei Zimmertemperatur. Die Einflüsse, welche die Jahreszeit und die Witterung auf den jeweiligen bakteriellen Zustand des Bodens ausübte, kamen trotzdem recht deutlich zum Ausdruck. Dagegen ergaben bei verschiedener Temperatur aufbewahrte Versuchsserien zum Teil Resultate, die offenbar keine zutreffenden Schlüsse ermöglichten hinsichtlich der Einwirkung der Temperatur auf die Vorgänge im Boden (siehe später).

Die Ergebnisse der Umsetzungsversuche wurden kontrolliert durch entsprechende Düngungsversuche auf dem Felde. Vegetationsgefäßversuche konnten, ganz abgesehen von anderen Bedenken prinzipieller Natur, nicht in Frage kommen, da unter anderem geprüft werden sollte, wie das flache Umbrechen der Stoppeln im Herbst bzw. das Unterlassen dieser Maßregel auf den Verlauf der Stickstoffumsetzungen im Boden und auf die nachfolgende Ernte einwirken würde.

betragen also circa 5 Proz. Ehrenberg konstruiert ein völlig schiefes Bild, wenn er die Differenzen nur auf den Erdstickstoff bezieht. Daß seine Rechnungsgrundlagen irrtümliche sind, hätte er, abgesehen von meinen entsprechenden Ausführungen, auch daran erkennen können, daß er für die Erde in meinen Kalkstickstoffversuchen stets höhere Werte errechnete als für die Erde in der Knochenmehllösung. Die sehr naheliegende Erklärung ist natürlich die, daß nicht immer, wie ich auf Grund einiger orientierender Versuche annahm, beim Erhitzen der Lösungen 1 mg Stickstoff in Verlust geraten war. — Schließlich muß ich auch gegen die Anschuldigung (l. c. p. 162) Einspruch erheben, daß ich Ehrenbergs Untersuchungen in meiner Arbeit zitiert hätte, „um in ihnen Fehler nachzuweisen“. Allerdings halte ich eine möglichst vollständige kritische Besprechung der bereits vorliegenden Arbeiten in jeder größeren wissenschaftlichen Arbeit für unerlässlich; aber aus wesentlich anderen Gründen, wie Ehrenberg meint. Dabei ist es nicht mein Bestreben, zu „bemängeln“, wie er sagt, sondern zu erklären, und so hatte ich z. B. (p. 30) hinsichtlich der auffallenden Abweichungen, die sich für seine früheren Peptonumsetzungsversuche ergaben, auf drei Punkte hingewiesen, die diese sehr bedeutenden Differenzen verständlich werden lassen. Der störende Einfluß der dort an zweiter Stelle genannten Aufbewahrung bei niedriger Temperatur war und ist mir gerade auf Grund der Beobachtungen hinsichtlich des Einflusses der Winterkälte auf die Resultate meiner Umsetzungsversuche nicht unwahrscheinlich. In den neueren Versuchen Ehrenbergs sind ja denn auch die Differenzen schon wesentlich geringere geworden, obwohl ihm allerdings noch eine relativ recht ansehnliche Zahl von Bestimmungen völlig mißlangen, und die Schwankungen oft 10 Proz. übersteigen, während ich auf Grund meiner Beobachtungen die Fehlergrenze bei etwa 5 Proz. glaubte ziehen zu dürfen.

Dieses „Schälen“ der Stoppel wurde auf 7 cm Tiefe ausgeführt, die Schicht, aus der die Proben entnommen wurden, erfuhr also hierbei keine direkte Beeinflussung, wohl aber erfolgte eine energische Veränderung, eine Durchmischung höherer und niederer Bodenschichten bei der Bearbeitung des Feldes im Frühjahr. Gedüngt wurde, außer mit Superphosphat, mit Knochenmehl, Kalkstickstoff, schwefelsaurem Ammoniak oder Chilesalpeter, und zwar in 30 kg N pro Hektar entsprechenden Quantitäten. Für jede Düngungsart wurden auf der geschälten, sowie auf der nicht geschälten Hälfte des Feldes je zwei Parallelparzellen (von 25 qm Größe) angelegt, zu denen noch je vier nicht mit Stickstoff gedüngte Vergleichsstücke hinzutraten. Als Versuchspflanzen dienten Kartoffeln.

Infolge Zeitmangels konnten leider nur aus der letzten Versuchsreihe die in den verschiedenen stickstoffhaltigen Lösungen am häufigsten vorkommenden Bakterien isoliert und in Bezug auf ihre Teilnahme an der betreffenden Umsetzung geprüft werden, während es allerdings sehr wünschenswert gewesen wäre, einen Einblick in die eventuell zu den verschiedenen Jahreszeiten eintretenden Aenderungen in dem Bestand der mikroskopischen Bodenflora zu erlangen.

### Boden und Witterung.

Der Boden des Versuchsfeldes ist von Natur aus ein schwerer, ziemlich nährstoffarmer Lehm, der aber in den letzten Jahren infolge fortgesetzter kräftiger Kalkung und Stallmistdüngung eine wesentlich bessere physikalische Beschaffenheit erlangt hat. Ueberdies bewirkte es der relativ niederschlagsarme Winter 1903/1904, daß die Bindigkeit des Bodens wenig zur Geltung kam, und sowohl auf der geschälten wie auf der nicht geschälten Parzelle eine günstige Krümelstruktur vorhanden war.

Sämtliche in Betracht kommenden Witterungsdaten sind in einer der der Arbeit beigefügten Tabellen zusammengestellt. Es muß gefordert werden, daß bei künftigen derartigen Untersuchungen dasselbe Verfahren befolgt wird, und nicht, wie dies bisher üblich war, gar keine oder nur unzureichende Angaben in dieser Hinsicht gemacht werden. Unerläßlich sind namentlich Ermittlungen der Bodentemperatur (in der betreffenden Tiefe) und des Wassergehalts der Erdproben. — Die im Sommer 1904 herrschende abnorme Trockenheit hat zum Teil recht störend auf die Resultate eingewirkt.

### Ergebnisse der Laboratoriumsversuche.

Zwecks rascher Orientierung seien nachfolgend die vor allem in Betracht kommenden Stickstoffwerte für die Ammoniakbildung, Salpeterbildung, Denitrifikation, sowie Stickstoffassimilation, und zwar in Prozenten der jeweils in Form der verschiedenen stickstoffhaltigen Substanzen den Lösungen zugesetzten Mengen an Gesamtstickstoff bzw. (für die Stickstoffassimilation) in Milligramm pro 100 ccm zusammengestellt und außerdem die Zahlen für die am Tage der Probenahme in 10 cm Tiefe beobachtete Bodentemperatur, sowie der Feuchtigkeitsgehalt der Erdproben in Gewichtsprozenten beigefügt (11,9 Gewichtsprocente entsprechen ungefähr 50 Proz. der Wasserkapazität des Versuchsbodens).

Beginn des Versuches		25. Aug. 1903	6. Nov. 1903	15. Jan. 1904	9. März 1904	9. Mai 1904	7. Juli 1904
Bodentemperatur in 10 cm Tiefe	Grad C	15,6	12,0	0,0	2,2	9,2	16,4
Wassergehalt	geschält	14,2	16,0	20,5	19,3	16,0	11,9
	nicht geschält	14,0	16,6	19,7	19,8	15,4	11,9
N als NH <sub>3</sub> aus Knochenmehl 3 Wochen Versuchsdauer	geschält	31,16	26,82	23,24	28,16	25,48	27,71
	nicht geschält	30,97	27,97	22,93	29,05	25,03	27,71
N als NH <sub>3</sub> aus Kalkstickstoff, 3 Wochen Versuchsdauer	geschält	46,26	32,75	8,36	31,52	64,68	41,52
	nicht geschält	44,74	32,16	6,37	30,41	57,31	39,30
N als NH <sub>3</sub> aus Harnstoff, 1 Woche Versuchsdauer	geschält	46,19	46,22	21,21	28,70	27,89	87,70
	nicht geschält	48,68	48,07	19,24	20,19	28,27	88,73
Salpeter-N aus Ammonsulfat, 4 Wochen Versuchsdauer	geschält	68,55	59,26	48,99	72,52	47,42	38,17
	nicht geschält	67,80	59,44	50,27	73,18	47,14	39,74
N-Verlust aus Natronnitrat (Denitrifikation)	geschält	79,90	68,35	43,46	45,27	43,02	52,00
	nicht geschält	81,08	84,32	53,00	55,10	58,86	52,33
N-Assimilation in Mannitlösung, 3 Wochen Versuchsdauer	geschält	10,57	10,50	10,05	11,62	14,11	5,60
	nicht geschält	10,79	5,85	6,05	10,08	12,06	5,15

Hiernach ergibt sich, daß der Einfluß der Jahreszeit sich am schwächsten bemerklich machte bei der Knochenmehlzersetzung, deutlicher trat er hervor bei der Nitrifikation, Denitrifikation und Stickstoffassimilation und am kräftigsten war er bei der Harnstoff- und Kalkstickstoffszersetzung.

Das Stopfelschälen übte eine deutlich hervortretende Wirkung nur auf die Denitrifikation und die Stickstoffassimilation aus. Die übrigen Umsetzungen blieben fast bzw. völlig unbeeinflusst.

Die Folgen der Frühjahrsbearbeitung, die am 23. April stattfand, machten sich in der am 9. Mai begonnenen Versuchsreihe bemerklich. Das Herausbringen der tieferen Bodenschichten verminderte den Effekt in den Umsetzungsversuchen am stärksten bei der Nitrifikation, weniger bei der Knochenmehlzersetzung, Harnstoffspaltung und Denitrifikation, dagegen war kein auf diesen Faktor zurückführbarer Einfluß wahrnehmbar bei der Stickstoffassimilation und Kalkstickstoffszersetzung.

Die Trockenheit im Juli wirkte besonders schädlich auf die Nitrifikation, Stickstoffassimilation und Kalkstickstoffszersetzung ein; kaum oder gar nicht nachteilig erwies sie sich bei der Knochenmehlzersetzung, Denitrifikation und Harnstoffspaltung. Im allgemeinen dürfte demnach gesagt werden, daß ein 60—80 Proz. der Wasserkapazität entsprechender Feuchtigkeitsgrad des Bodens für einen ungestörten Verlauf der Umsetzungen in der Ackererde nötig zu sein scheint; ein solcher von 50 Proz. ist für einige Prozesse bereits zu niedrig.

In der Originalarbeit sind diese verschiedenen Punkte, die durch das Luftbedürfnis, die Temperaturansprüche und das vorhandene oder fehlende Sporenbildungsvermögen der jeweils beteiligten Bakterien ihre Erklärung finden, im einzelnen ausführlich besprochen; ich muß Interessenten darauf verweisen. Dort sind auch weiterhin die Beobachtungen eingehend erörtert, die sich bei längerer Versuchsdauer bzw. unter etwas abgeänderten Versuchsbedingungen ergaben.

(Schluß folgt.)

## Wundreiz, Parasitismus und Gummifluss bei den Amygdaleen.

Von M. W. Beijerinck und A. Rant.

Schon vor langer Zeit hat sich ergeben<sup>1)</sup>, daß ein in der Rinde der Amygdaleen parasitisch lebender Hyphomycet, welcher von Prof. Oudemans *Coryneum Beijerinckii* (Hedwigia. 5. Sept. 1883. No. 8) genannt wurde, jedoch identisch mit *Clasterosporium amygdalearum* Sacc. (= *Helminthosporium carpophilum* [Lév.] Aderh.) sein dürfte, bei der Impfung ins Cambium dieser Gehölze zu einem starken und lange dauernden Gummifluß Veranlassung gibt.

Anfangs wurde die Richtigkeit dieser Beobachtung von gewissen Seiten angezweifelt, von anderen bestätigt. Gegenwärtig herrscht darüber kein Zweifel mehr, wie z. B. erhellt aus der ausführlichen Untersuchung von Aderhold<sup>2)</sup>, welche mit einer Reinkultur<sup>3)</sup> des genannten Pilzes ausgeführt wurde und unsere Kenntnis des Vorganges in manchen Beziehungen erweitert hat.

Bei allen früheren Versuchen über diesen Gegenstand ist jedoch die Beziehung des Gummiflusses zum Wundreiz und des letzteren zum Parasitismus nicht genügend gewürdigt, so daß eine einigermaßen befriedigende Theorie des Vorganges gänzlich fehlt. Neue Experimente, wobei Herr Doctorandus A. Rant mich kräftig unterstützte, um eben auch diese Seite der Frage zu beleuchten, haben zu einer besseren Einsicht bezüglich des Zusammenhanges zwischen den genannten Erscheinungen geführt und veranlassen zur folgenden vorläufigen Mitteilung, während ein ausführlicher Bericht für später vorbehalten bleibt.

Als Versuchsmaterial kamen besonders Pfirsich und Pfirsichmandel<sup>4)</sup> in Verwendung, weil diese Arten sehr empfindlich sind für Verwundungen und darauf relativ leicht mit Gummifluß reagieren, während Kirsche, Pflaume und Aprikose bei Verwundung schwieriger Gummi erzeugen, übrigens jedoch unter identischen Erscheinungen.

Hier folgen nun zunächst Beobachtungen an ganz jungen, noch grünen Zweigen, und dann solche an älteren Ästen mit einem oder mehr gänzlich verholzten Jahresringen.

### 1. Verwundung des Cambiums junger grüner Zweige.

Wenn im Hochsommer junge grüne Sprosse des Pfirsichs oder der Pfirsichmandel in demjenigen Teile, welcher eben aufgehört hat, in die Länge zu wachsen, bis ins Cambium und das sekundäre Holz hinein verwundet werden, so findet man, daß innerhalb einer Woche, selbst schon am 4. Tage,

1) Beijerinck, M. W., *Maladie de gomme chez les plantes*. (Archives Néerland. T. XIX. 1886.)

2) Ueber *Clasterosporium carpophilum* (Lév.) Aderh. und dessen Beziehungen zum Gummifluß. (Arbeiten der Biolog. Abteil. des Gesundheitsamtes. Bd. II. 1902. Heft 5. p. 515.)

3) Die Reinkulturen sind viel schwieriger darzustellen, als man von einem so kräftig wachsenden Pilze erwarten würde. Man verwendet dazu am besten Pfirsichblätter-dekkt-Pepton-Agar, und erhält dabei entweder eine sehr stark sporulierende, stark virulente, oder eine sporenarme, weniger virulente Form oder ein steriles Mycel, welches sich saprophytisch oder jedenfalls nur sehr schwach parasitisch verhält. Seit 1886 habe ich mit solchen Reinkulturen viele Versuche gemacht.

4) *Prunus amygdalo-persica* nach Grenier, und Godron (Flore de France. T. I. 1848. p. 512), eine selbständige Art, welcher Auffassung ich mich anschließe.



an einzelnen Wunden Gummitröpfchen sichtbar sind. Der Gummifluß ist in den Wunden nahe der Spitze der Sprosse nur gering, es folgt dann eine 1—2 Decimeter lange Zone, wo die Erscheinung am stärksten ist; noch weiter nach unten nimmt sie wieder ab und erlischt gänzlich in noch größerer Entfernung von der Spitze. Am empfindlichsten ist also die Region, welche unterhalb und ganz nahe der Zone des maximalen Längenwachstums gelegen ist, jedoch nicht diese selbst. Letzteres wohl deshalb, weil der Gummifluß mit dem Cambialwachstum sowohl des Cambiums wie des Procambiums zusammenhängt, und dieses Wachstum eben in dem sich noch verlängernden Sproßteile nur gering ist, während die übrigen parenchymatischen Gewebe unfähig sind, in Gummifluß zu geraten. Dieser Umstand ist von grundlegender Bedeutung für die Erklärung der Erscheinung überhaupt.

Sehr bemerkenswert ist ferner die Tatsache, daß auch die älteren, schon mit Kork bedeckten Zweigteile bei dieser Form des Versuches im Sommer durch Cambiumverwundung nicht in Gummifluß zu bringen sind. Da dieses jedoch, wie später gezeigt wird, nicht unter allen Umständen zutrifft und namentlich von der Jahreszeit abhängig ist, muß geschlossen werden, daß der physiologische Zustand, unter dem sich jenes Gewebe befindet, für die Möglichkeit oder Unmöglichkeit der Gummibildung entscheidend ist.

Die mikroskopische Untersuchung der verwundeten Gummi, erzeugenden Stellen ergibt, daß das Gummi aus feinen Gummikanälen hervorquillt, welche sich innerhalb des Cambiumringes befinden und letztere mit ihrer nach außen gekehrten Seite unmittelbar berühren. Anatomisch entspricht das Gummi demzufolge sekundärem Jungholz, welches sich nicht weiter ausgebildet hat, sondern, als es noch im cambialen oder Zellenzustand war, verquollen und verflüssigt ist. Die Bildung von getrennten Kanälen folgt aus dem Umstande, daß die aus dem Markstrahlencambium hervorgehenden Zellen viel schwieriger sich in Gummi verändern, wie das interradiale Jungholz. Jedoch kann die Gummosis sich auch über die in Entstehung begriffenen Markstrahlen selbst ausdehnen, wobei dann flache Gummiräume oder breitelliptische Gummikanäle entstehen. Die bekannte und oft abgebildete Entstehung trichomatischer Zellen und Zellenstränge, welche in die Gummikanäle hineinragen, geht gewöhnlich aus dem sich umbildenden jungen Markstrahlencambium hervor.

Stellung und Ausdehnung der Gummikanäle stehen in gesetzlicher Beziehung zum Orte und zur Intensität der Verwundung. Ist letztere gering, so finden sie sich nur in derer unmittelbaren Nachbarschaft; nur bei tiefen, auch das Mark des Zweiges durchsetzenden Wunden entstehen Gummikanäle rings um den ganzen Zweig. Die Länge der Kanäle beträgt 1 bis ungefähr 10 mm; ihre sämtlichen Endpunkte liegen nahezu in einer Ellipse, in deren unterem (der Basis des Zweiges zugekehrtem) Brennpunkte die Wunde. Der Wundreiz läßt sich also etwas weiter oberhalb, wie unterhalb der Wundstelle bemerken, und streckt sich seitlich weniger weit aus, wie nach oben und unten. Ganz damit in Uebereinstimmung liegen bei kleinen Verwundungen, z. B. kurzen Querschnitten oder Stichwunden, die weitesten Gummikanäle in der Mitte, während die seitlichen desto enger werden, je weiter dieselben von der Wunde entfernt liegen.

Fassen wir das Vorhergehende zusammen, so kommen wir zu dem Schlusse, daß das Wundgummi, welches unter dem Einfluß eines sich elliptisch um die Wundstelle ausbreitenden Wundreizes in jungen grünen

Zweigen im Hochsommer entsteht, aus dem in Entwicklung begriffenen Jungholze hervorgeht, während alle anderen weiter entwickelten und erwachsenen Gewebe solcher Zweige, gleichgültig welcher Natur und Anordnung, nicht vom Gummifluß angegriffen werden. Kurz, die Erscheinung beruht auf einer durch Wundreiz verursachten abnormen Entwicklung des embryonalen Holzgewebes.

## 2. Verwundung des Cambiums älterer Aeste.

Wenn man im Februar oder März ein- oder mehrjährige Aeste von Pfirsich, Pfirsichmandel, Aprikose, Kirsche oder Pflaume abschneidet und im erwärmten Zimmer in Wasser stellt, so findet man an kräftigen gesunden Zweigen ausnahmslos, daß die freie Wundfläche nach 5—10 Tagen aus dem Cambiumring Gummi auspreßt. Schnittwunden, an solchen Zweigstücken zu jener Zeit durch die Rinde bis ins Cambium geführt, tun dasselbe, und zwar besonders deutlich, wenn sie schief oder quer geschnitten, weniger deutlich, wenn ganz vertikal.

Gleiche Verwundungen in der genannten Jahreszeit im Freien angebracht, geben überhaupt nicht zum Gummifluß Veranlassung, offenbar, weil die Temperatur zu niedrig ist, um die für den Gummifluß nötigen biochemischen Prozesse auszulösen. Andererseits reagieren dieselben Aeste, wenn sie im Sommer auf die gleiche Weise verwundet sind, ebensowenig mit Gummifluß, wenn sie abgeschnitten und im Zimmer in Wasser gestellt, wie wenn sie am Baume gelassen werden. Es ist deshalb deutlich, daß der besondere Zustand des Cambiums im Frühjahr für das Zustandekommen des Gummiflusses ausschlaggebend ist. Dieses gilt jedoch nicht mehr, wenn es mit *Coryneum* infiziert ist, denn dadurch werden die Wunden immer zu einer kräftigen Gummibildung gereizt.

Die mikroskopische Untersuchung des Cambiumringes in der Nachbarschaft der gummierenden Schnittwunde im Februar lehrt folgendes:

Zunächst ergibt sich, daß das „Cambium“<sup>1)</sup> zu dieser Jahreszeit mehrschichtig ist und nicht aus einer einzigen Zellenlage besteht. Jedenfalls ist in diesem cambialen Zellengewebe ein Kontrast zwischen Rinde und Holz nicht ausgeprägt, und es ist nicht anzugeben, wo die künftige Grenze zwischen den beiden sich ausprägen wird. Was aber ganz besonderes Interesse beansprucht, ist die Ausbildung von Gummikanälen in der Nachbarschaft, jedoch bis auf beträchtlicher Entfernung von den Wundstellen, eben in diesem vielschichtigen, aus 4—6 Zellenlagen bestehenden Cambiummantel auf eine analoge Weise, wie sie für die jungen grünen Zweige beschrieben ist. Zwar ist bei dem nicht differenzierten Zustand des Cambiums der Ursprung aus demjenigen Teile desselben, welchem das Jungholz entspricht, bei der Inaktivität des Dickenwachstums schwieriger nachzuweisen und erfordert eine genaue Verfolgung der Entwicklung des Holzes, dadurch kommt man aber auch hier zu dem bestimmten Schluß, daß das Gummi aus embryonalem Holze entsteht.

Die Ausdehnung und Anordnung der Gummikanäle ist bei diesem Zimmerexperiment mit alten Aesten klarer und übersichtlicher, wie bei den jungen Zweigen. Auch hier befinden sich die Enden der Kanäle innerhalb einer Ellipse, worin die Wundstelle ungefähr im unteren Brennpunkte liegt. Die Kanäle sind in der Mitte ihrer Länge am weitesten, an den Spitzen am engsten; die mittleren Kanäle, also die der Wunde am nächsten liegenden, sind die mächtigsten. Offenbar breitet sich der

1) Vielleicht würde der Name „Perizikel“ besser dafür passen.

Wundreiz auch hier weiter aus in die Richtung der Spitze, wie nach der Basis des Sprosses, was daraus erklärt werden könnte, daß dieser Reiz sich mit dem „aufsteigenden Saftstrom“ dem Xylem entlang fortpflanzt. Aderholds Beobachtung, daß die Infektion mit *Coryneum* in Wunden, welche in einem geringten Zweige oberhalb des Ringes angebracht werden, zu einem viel stärkeren Gummiflusse veranlassen, wie solche unterhalb der Ringelung, ist mit dieser Theorie nicht im Widerspruche, denn der „absteigende“ Saftstrom führt oberhalb der Ringelung die Peptone zu, welche für das Wachstum von *Coryneum* notwendig sind, und unterhalb der Ringelung bald fehlen.

Beiderseits von der Wunde ist die Entfernung der Kanäle desto größer, je tiefer und umfangreicher die angebrachten Verwundungen waren, so daß man es in der Hand hat, den ganzen Cambiumring in Gummifluß zu versetzen, eben wie am Querschnitt. Wie bei den grünen Zweigen, erzeugt auch hier das Markstrahlencambium viel schwieriger Gummi, wie der interradiale Teil, worauf eben die Erscheinung der Kanalbildung beruht. Bei starkem Wundreiz gummiert jedoch das Markstrahlencambium ebenfalls, und fließen die Kanäle seitlich zusammen zu flachen Gummiräumen.

Zusammenfassend, kommen wir für die älteren Aeste also zu demselben Resultate, wie für die jungen Sprosse: Der Gummifluß ist eine durch Wundreiz verursachte Verflüssigung des embryonalen Jungholzes.

Die bekannte Erfahrung, daß im Holz, ganz besonders aber im Wundholz jeden Alters, bei den Amygdaleen oft (aber durchaus nicht immer) Gummiräume und Gummikanäle vorkommen, ordnet sich dem Vorhergehenden sehr gut an, wenn dabei nur beachtet wird, daß die im alten Holze, weit vom Cambium entfernten Kanäle schon lange vorher entstanden sind, nämlich als die verwüstete Stelle noch embryonal war; eine Verflüssigung des ausgebildeten Holzes findet niemals statt. Hieraus geht weiter hervor, daß das Cambium bei dem Vorgange nicht verschwunden ist, denn es hat außerhalb des Gummiraumes in regelmäßiger Weise zur Jahresringbildung Veranlassung gegeben.

Wie groß ein Gummikanal überhaupt werden kann, und worauf es beruht, daß selbst bei kontinuierlicher Fortdauer des Wundreizes, wie z. B. im Falle der Infektion mit *Coryneum*, dennoch periodisch Holzbildung und Gummifluß stattfindet, sind noch offene Fragen.

### 3. Wundreiz, verursacht durch Gift oder Verbrennen.

Obschon dasjenige, was unter Wundreiz zu verstehen ist, vorläufig unbekannt bleibt, muß doch vorausgesetzt werden, daß es sich dabei um eine Beeinflussung der lebenden cambialen Gewebe durch die absterbenden nekrobiotischen Zellen handelt. Es konnte deshalb erwartet werden, daß starke Gifte in das Cambium eingeführt, auf eine ähnliche, vielleicht jedoch kräftigere Weise um sich her greifen würden, wie eine bloße Verwundung, weil das Gift bei der Diffusion mehrere Zellen hintereinander zum Absterben bringen kann, als eine einfachere Verwundung. Auch ließ sich erwarten, daß Brennwunden sich ebenso verhalten sollten, wenn auch schwächer wirkend, wie starke Gifte. Die Voraussetzung hat sich gut bewährt.

Als Gift verwendete ich Sublimat und erreichte damit im Sommer, schon innerhalb 4—7 Tagen, ein überzeugendes Resultat, indem mit dieser Substanz vergiftete Stichwunden in jungen grünen Pfirsichzweigen viel

mehr Gummi erzeugten, wie das von den Stichwunden allein zu erwarten gewesen wäre. Als intensiv pilztötendes Gift schließt die Sublimatbehandlung jede Möglichkeit aus, daß irgend ein parasitischer Mikrobe, z. B. eine nicht kultivierbare Schleimbakterie, als nächste Ursache der Gummosis aufzufassen sei, derweise, daß das Gummi Bakterien Schleim wäre, wie das gegenwärtig von unerfahrenen Autoren behauptet wird. Daß der Pilz *Coryneum* einen so starken Gummi- Fluß hervorruft, ist eben daraus zu erklären, daß derselbe ein heftiges, wie Sublimat wirkendes Gift erzeugt, welches einen lange dauernden Wundreiz auslöst. In Uebereinstimmung mit der besonders kräftigen Wirkung der Gifte steht der Umstand, daß die Sublimatwunden auch an denjenigen älteren Zweigteilen und zu einer Jahreszeit Gummi abscheiden, wo unter dem Einfluß der Wunden allein kein Gummi entstehen würde. So haben ältere Aprikosenäste im Juli aus mit Sublimat behandelten Wunden ziemlich stark gummiert, während dieselben zu dieser Jahreszeit ohne Gift glatt durch Callusbildung heilen, aber ohne Gummi zu produzieren.

Auch die Brennwunden haben ein ähnliches Resultat ergeben, wenn auch weniger ausgesprochen, wie die mit Sublimat behandelten, was leicht aus dem Umstande zu erklären ist, daß das Sublimat bei der langsamen Diffusion durch die absterbenden Gewebe allmählich um sich greifen und während längerer Zeit jemals neue, von der Wunde weiter und weiter entfernten Zellen vernichtet wird. Bei den Brennwunden dagegen, welche bei Sonnenschein mittelst einer Taschlinse erzeugt wurden, ist und bleibt das getroffene Feld eng umschrieben. Es ist klar, daß in der Mitte eines solchen Feldes tote Zellen vorkommen, von einer Zone nekrobiotischer umgeben, welche letztere dadurch charakterisiert sind, daß das Protoplasma derselben getötet, die Enzyme und enzymartigen Körper aber noch wirksam sein können. Der Einfluß dieser nekrobiotischen Zellen auf ihre lebende Umgebung muß auch hier wohl Ursache des Gummiflusses sein.

Diese Auffassung führt zu der Ansicht, daß der Uebergang der embryonalen Holzzellen in Gummi Analogie zeigt mit der Wirkung der cytolytischen Enzyme, wobei an die Cytase der Physiologen zu denken ist, welche ganze Zellen in Lösung bringt, und nicht an den Begriff „Cytase“ der Botaniker, wobei nur an Zellwandverflüssigung gedacht wird, und besser die speziellen Namen Cellulase, Gelase, Pectosinase zu verwenden sind.

Von der früher (l. c. 1886) ausgesprochenen Hypothese, daß vom parasitischen Pilz *Coryneum* der gummierzeugende enzymartige Körper herstamme, entfernt sich die gegenwärtige Annahme insoweit, daß es nun wohl als erwiesen zu betrachten ist, daß der Pilz nur durch Giftwirkung einen Wundreiz ausübt, während die nekrobiotischen pflanzlichen Zellen selbst das gummihervorbringende Agens absondern.

Daß dieses Agens die Zellen wirklich verläßt und auf geringe Entfernung die Umgebung affiziert, muß aus dem Umstand geschlossen werden, daß das Gummi nicht ausschließlich aus den Zellen der Pflanze hervorzugehen braucht, sondern, im Falle einer Infektion mit *Coryneum*, auch teilweise aus den in Gummi veränderten Mycelzellen dieses Pilzes entsteht, wie schon in der zitierten Abhandlung 1886 abgebildet wurde. Hier will ich noch hinzufügen, daß gegenwärtig mit Sicherheit bekannt ist, daß diese höchst eigentümlichen, sich in Gummi verwandelnden Mycelzellen nur in den Holzwunden vorkommen und niemals in den *Coryneum*-Kulturen außerhalb der Wirtspflanze

Indirekt findet die Annahme eine Stütze in der Tatsache, daß bei den höheren Pflanzen ein cytolytischer Körper sicher sich betätigen muß, nämlich bei der Tracheiden- und Gefäßbildung aus dem cellulären Meristem oder dem Procambium, welcher Vorgang eben auf Cytolyse beruht, und wobei nur die schon verholzten Längswände der Gefäßelemente unangegriffen zurückbleiben.

Der Wundreiz hätte also nach dieser Auffassung einen schon beim normalen Leben stattfindenden Vorgang zu steigern, und, weil der Gummifluß nur im sekundären Jungholze wirklich bedeutungsvoll ist, eben an denjenigen Stellen, wo auch normalerweise die Cytolyse sicher am ausgiebigsten stattfindet. Auch wäre einzusehen, warum selbst in jungen, jedoch schon teilweise ausgebildeten Gefäßen bei der Gummosis Gummi vorkommen kann.

Auch das sogenannte physiologische Gummi, welches in vielen Hölzern gefunden wird, dürfte sich den gleichen Gesichtspunkten ungewungen unterordnen lassen. Wenn nämlich die Hypothese richtig ist, so muß das bei der normalen Gefäßbildung entstehende Gummi unter gewöhnlichen Bedingungen resorbiert werden, wobei es sich teilweise in den Gefäß- und Tracheidenwänden absetzt, doch kann es nicht befremden, daß dieses nicht immer vollkommen geschieht, aber oft ein Teil des Gummis sich der Resorption entzieht und als physiologisches Produkt selbst in den erwachsenen Gefäßen wiedergefunden wird.

Die vorläufige Theorie des Gummiflusses läßt sich nach dem Vorhergehenden, wie folgt kurz zusammenfassen:

- 1) Die normale Pflanze erzeugt cytolytische Substanzen, welche sich an der Gefäß- und Tracheidenbildung beteiligen.
- 2) Das dabei erzeugte physiologische Gummi wird zwar gewöhnlich gänzlich resorbiert, bleibt jedoch unter Umständen als solches selbst in der Höhlung der erwachsenen Gefäße nachweisbar.
- 3) Gummifluß beruht auf abnormaler Steigerung der Wirkung jener cytolytischen Substanzen unter dem Einfluß absterbender Zellen, vielleicht dadurch, daß bei der Nekrobiose eine besonders große Menge davon erzeugt wird. Unter Nekrobiose ist die Zelltätigkeit zu verstehen, nach Tötung des Protoplasmas aber bei dem Aktivbleiben der enzymartigen Körper.

4) Bei der Giftwirkung, wie durch Sublimat oder durch das Gift von *Coryneum*, wird die Cytolyse im Cambium und in dem daraus hervorgehenden Jungholz abnorm gesteigert.

Ich bin mir sehr wohl bewußt, daß in dieser Theorie zwei vielleicht ganz verschiedene Vorgänge, nämlich Cytolyse und Verholzung, nicht genügend getrennt sind. Die Möglichkeit jedoch, daß die bei der Verholzung auftretenden Körper, wie Vanillin, Methylfurfurol, Brenzcatechin etc., sich eben auch bei der Cytolyse beteiligen könnten, machen zur Zeit weitere Spekulationen unfruchtbar.

#### 4. Einfluß von Saprophyten auf Wundreiz und Gummifluß bei jungen grünen Zweigen. Parasitismus.

Wie wir sahen, ist bei dem Verwundungsversuche der jungen Zweige im Juli nur eine relativ kurze Längsstrecke fähig, Gummi zu erzeugen; die älteren Teile tun dieses im Sommer nicht, doch heilen die Wunden dann schnell und vollkommen durch Callusbildung.

Ein genauer Vergleich vieler solcher verwundeten Zweige zeigt jedoch einen beträchtlichen Unterschied bezüglich der Länge der Zone,

wo sich die im Gummifluß befindlichen Wunden vorfinden, so daß diese Zone zwischen weniger als 1 und mehr als 2 Dezimeter Länge variieren kann.

Die Erklärung dieser wichtigen Erscheinung muß, wie folgt, gegeben werden:

Der Gummifluß ist nach der hier vertretenen Auffassung die direkte Folge eines nekrobiotischen Prozesses; alle Ursachen, welche zu Nekrobiosis führen, veranlassen darum Gummifluß. Wenn aber einfache Verwundungen unter bestimmten Bedingungen das schon bewirken, müssen andere Verhältnisse, welche das Absterben der Zellen herbeiführen, ebenfalls Gummifluß auslösen. Was nun die Saprophyten betrifft, d. h. die Mikroben, welche ohne spezifische Gifte zu erzeugen, einfach in und von den Pflanzensäften leben, so müssen diese, bei starker Vermehrung, durch Sauerstoffentziehung zum Absterben der nächst gelegenen Zellen des Wirtes führen können und deshalb, wenn in Wunden eingeführt, eine Erhöhung des Wundreizes verursachen. Wenn diese Ansicht richtig ist, kann erwartet werden, daß an einem jungen Sproß, bei Gegenwart von Saprophyten, in den Wunden eine längere Zone des Sprosses gummierzeugende Wunden aufzeigen wird, wie ohne Saprophyten. Um diese Voraussetzung zu kontrollieren, wurden ganz gleiche Sprosse auf identische Weise verwundet und bei einigen zugleich *Dematium pullulans* in die Wunde hineingebracht. Dieser Pilz ist ein echter Saprophyt der *Amygdaleen* und kommt, ohne bemerkt zu werden, sehr viel auf zarten, gesunden Blättern, Zweigen und besonders jungen Früchten vor, jedoch nicht genügend allgemein, um bei einfacher Verwundung eine jede Wunde zu infizieren. Die Erwartung wurde nun vollständig bestätigt: Der junge grüne Zweig, welcher mit diesem Pilz künstlich infiziert war, trug bis auf beträchtlich größere Entfernung von der Spitze gummierende Wunden, wie der verwundete Zweig ohne künstliche Infektion. Der ältere Sproßteil ist jedoch immun gegenüber diesen Saprophyten, so daß damit infizierte Wunden an zwei- und mehrjährigen Aesten normal heilen, ohne Gummi zu erzeugen, ganz anders also, wie bei der Infektion mit *Coryneum*.

Miteinem als *Phyllosticta Persicae* isolierten Saprophyten wurde ein ähnliches Resultat erhalten. Mit aus Gummi isolierten Bakterien konnte die gleiche Erscheinung nicht hervorgerufen werden; dieselben ergaben sich als vollständig unwirksam, offenbar weil sie in den Säften der durch die Verwundung getöteten Zellen nicht genügend zur Entwicklung kommen konnten, um darin vollständige Sauerstoffentziehung und Asphyxie nicht verwundeter Zellen herbeizuführen. Doch wird es wohl andere Bakterienarten geben, die sich wie die genannten Saprophyten betragen.

Hier ist vielleicht die geeignetste Stelle, noch einige Bemerkungen zu machen bezüglich der saprophytischen Normalflora der höheren Pflanzen im allgemeinen.

Burri und Duggeli vertreten die Ansicht, daß eine bestimmte Bakterienart, welche sie *Bacillus herbicola* genannt haben<sup>1)</sup>, dabei nicht nur die Hauptrolle, sondern sozusagen die einzige Rolle spielt. Obschon ich die große Allgemeinheit dieser Bakterie, welche ich selbst schon vor vielen Jahren entdeckt und *B. anglomerans* nannte<sup>2)</sup>, völlig an-

1) Die Bakterienflora gesunder Sameu und Keimpflanzen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 602.)

2) Botanische Zeitung. 1888. p. 749.

erkenne<sup>1)</sup>, bin ich doch bei umfassenden Untersuchungen zu der Ansicht gekommen, daß auch andere Mikroben eine ähnliche Rolle spielen können.

Was zunächst Vorkommen und Verbreitung von *B. anglomerans* (= *B. herbicola*) betrifft, so kann ich als ein gutes Verfahren, um diese Art aufzufinden, folgendes empfehlen: Man lasse auf feuchtem Fließpapier im Thermostaten bei 25°—30° C irgend einen Pflanzensamen auskeimen (Klee, Weizen, Hanf, Lein, Brassica, Vicia, Phalaris, und viele andere kamen zur Untersuchung). Sobald die Keimwurzel hervortritt, werden schon viele Zellen der Calyptra abgestreift, und in der so entstehenden schleimigen Masse kommt beinahe unfehlbar unsere Bakterie zur Entwicklung, weil sie das Trocknen gut verträgt und im Staube auf der Samenhaut vorkommt. Man hat also nichts weiter zu tun, als die gekeimten Samen mit einer Pinzette anzugreifen und auf die Oberfläche einer geeigneten Gelatineplatte, z. B. auf Fleischgelatine, mit der Wurzelspitze Impfstiche zu ziehen. Nach 1 bis 2 Tagen bekommt man dann ganze Serien von Kolonien, oft von *B. anglomerans* allein, bisweilen mit anderen gemeinen Bakterienarten gemischt. Die Art ist leicht kenntlich durch das Vorkommen von sehr charakteristischen Zoogloeen (welche jedoch auch bei anderen Arten unter ganz ähnlichen Formen vorkommen können), und meistens auch durch eine gelbe oder hellbraune Farbe der Kolonien, kommt aber auch oft farblos vor, wodurch die Diagnose etwas schwieriger wird.

Während Duggeli nun angibt, daß *B. herbicola* auch auf den Blättern von allerlei Pflanzen massenhaft vorkommt, bin ich durch eigene Untersuchungen schon seit Jahren zu der Ueberzeugung gelangt, daß dieses allerdings nicht selten zutrifft, jedoch durchaus nicht mit der gleichen Konstanz, wie im Calyptra-Schleim der Wurzelspitzen. Die eigentliche saprophytische Flora der Baumblätter, welche ich besonders untersucht habe, besteht der Hauptsache nach aus ganz anderen Mikroben, nämlich aus Dematien, Blastomyceten, wozu die roten und farblosen Erdhefen zu bringen sind, und gewissen sehr gemeinen Schimmelarten aus den Gattungen *Trichosporium*, *Cladosporium* und *Epicoccum*<sup>2)</sup>, während Bakterien darauf nur selten in beträchtlicher Menge vorkommen, und ich muß meine Verwunderung aussprechen, daß diese offenliegende Tatsache nicht von Burri und Duggeli bemerkt ist. Besonders die Dematien bilden in verschiedenen Arten den Hauptteil dieser Flora, und das war die Ursache, warum eben eine auf Amygdaleen weit verbreiteten Art dieser Gattung für die Infektionsversuche der Cambiumwunden verwendet wurde. Daß junge Dematien auch als wahre Saprophyten in der Rinde toter Zweige von verschiedenen Amygdaleen vorkommen, vermindert ihre Bedeutung für die „Normalflora“ der Pflanzen nicht, denn es ist klar, daß die Mikroben dieser Flora auf den ganz gesunden Blättern doch

1) Daß die richtige Auffassung selbst der gemeinsten Bakterienarten nicht jedermanns Sache ist, ergibt sich auf eigentümliche Weise aus der Geschichte eben dieser Bakterie. Ihre Gemeinheit auf Pflanzenwurzeln aller Art hat Frank veranlaßt, darin die Ursache der Entstehung der Papilionaceenknöllchen zu erblicken, wie aus seiner Figur 34, Taf. I in den Landwirtschaftl. Jahrbüchern 1890, ganz klar hervorgeht. Sein *Rhizobium leguminosarum* ist also nichts weiteres, wie mein *B. anglomerans* und Burri und Duggelis *B. herbicola* und hat mit den Papilionaceenknöllchen überhaupt nichts zu schaffen.

2) Daß es sich hierbei im allgemeinen nicht um Wachstum in dem durch Blattläuse gebildeten Honigtau handelt, wurde festgestellt durch viele Versuche mit Pflanzen, welche vollständig frei von Blattläusen waren.

irgend eine Nahrung finden müssen, wodurch sie eben zu Saprophyten werden <sup>1)</sup>).

Für den gegenwärtigen Zweck scheint es unnötig auf die vielseitigen hier in Betracht kommenden und noch lange nicht erschöpften Fragen weiter einzugehen.

Was nun die eigentlichen Parasiten betrifft, welche Gummifluß auslösen, so konnte davon bisher neben dem sehr kräftig wirkenden *Coryneum*, nur *Monilia fructigena* auf Aprikosenzweigen und mit einigem Zweifel eine auf Kirschenästen allgemein verbreitete *Cytospora* aufgefunden werden. Zwar konnte mit letzterer Art weder bei Pfirsich noch Kirsche Gummifluß hervorgerufen werden, wohl aber bei starker Infektion in Pflaumenästen <sup>2)</sup>).

Das Eigentümliche der Wirkung beim Parasitismus ist die große Intensität der Vergiftungserscheinungen in und an den infizierten Wunden, die so heftig sind, daß junge Zweige, welche bis ins Cambium mit *Coryneum* besiedelt sind, leicht unter Bräunung der Gewebe gänzlich zum Absterben kommen, wobei dann allein die Uebergangsstellen vom toten ins lebende Gewebe Gummi auspressen. Bei vorsichtiger Infektion, z. B. in kleinen Stichwunden, kann man aber leicht den Zweig selbst lebend erhalten und alle Wunden zum Gummifluß bringen. Ueberall, wo sich Cambium vorfindet, und zu jeder Jahreszeit kann bei allen bisher untersuchten *Amygdaleen* mit *Coryneum* heftiger Gummifluß hervorgerufen werden, wobei sich anatomisch die gleichen Erscheinungen, wie bei der einfachen Verwundung und bei der Sublimatvergiftung wiederholen, und zwar in viel beträchtlicherem Umfange, wobei wieder die Bildung von Gummikanälen besonders hervortritt.

##### 5. Vergleich des Gummiflusses mit dem Gummiharzfluß.

Die Entstehung des Gummiflusses infolge eines Wundreizes bei den *Amygdaleen* ist durchaus keine allein dastehende Erscheinung, sondern bis in die anatomischen Details identisch mit gut untersuchten Fällen von Gummiharzfluß bei den Dikotylen, bei welchen letzteren parasitische Mycelien ebenfalls mit Sicherheit beobachtet, wenn auch nicht richtig gedeutet sind. Beim Gummiharzfluß sind zwei Fälle zu unterscheiden: Entweder, es sind in der gesunden Pflanze keine Gummiharzkanäle gegenwärtig, indem diese nur ausschließlich infolge von Wundreiz entstehen (*Styrax benzoin*), also wie bei den *Amygdaleen*, oder es sind in der normalen Pflanze schon Gummiharzkanäle ausgebildet, welche jedoch bei der Entstehung des pathologischen Gummiharzes, wie Svendsen nachdrücklich nachweist, gar nicht in Betracht kommen; die zahlreichen infolge des Wundreizes entstandenen Kanäle sind auch hier echte cambiale Neubildungen (*Canarium*, *Shorrea*, *Toluifera*). Letzteres ist der ge-

1) Diese Nahrung muß natürlich in gelöstem Zustand aufgenommen werden. Wahrscheinlich geschieht dieses nur bei Regenwetter und nicht durch osmotischen Austausch zwischen Mikroben- und Pflanzenzellen. Dafür spricht, daß diejenigen Pflanzen, welche sich nicht benetzen lassen (wie *Robinia*, *Crambe*, *Hypericum* etc.), relativ sehr wenige Keime tragen, während die benetzbaren Blätter, wie diejenigen von *Sambucus*, *Ulmus*, *Fraxinus*, Pfirsich, Pflaume etc., den gewöhnlichen Fall vergegenwärtigen, das heißt, so zu sagen mit Keimen überdeckt sind. Durch diese Erfahrung fällt Licht auf die biologische Bedeutung des Pflanzenreifes als Hauptmittel um Benetzung, und damit Befallen durch Mikrobenkeime im allgemeinen, also auch von Parasiten vorzubeugen.

2) Zahlreiche Versuche an *Elaeagnus argentea* durch Gift oder Parasiten Gummifluß auszulösen, waren vergebens.



wöhnliche Fall und bezeichnet auch das Verhalten der Harz erzeugenden Nadelhölzer. Ueberall entsteht das pathologische Produkt durch die Verflüssigung embryonalen sekundären Jungholzes, sodaß sowohl Gummosis wie Gummiharzfluß und Harzfluß als pathologische Störungen im Verholzungsprozesse aufzufassen sind. Uebrigens verweise ich auf die interessante Abhandlung von Svendsen<sup>1)</sup>, worin Präparate beschrieben werden, welche von Prof. Treub in Buitenzorg angefertigt waren.

Der Vergleich bekommt dadurch ein besonderes Interesse, daß auch bei der Gummiharzbildung der Parasitismus eine ähnliche Wirkung ausübt, wie beim Gummifluß, d. h. infolge der dadurch verursachten Fortdauer des Wundreizes zu einer stark erhöhten Gummiharzbildung Veranlassung gibt.

Daß dieses wirklich zutrifft und zu einem praktisch erfolgreichen Resultat führen kann, geht hervor aus einem durch den Oberförster S. P. Ham der Niederländischen Regierung eingereichten Rapport über das Damarharz, von dem ich durch die Güte des Autors eine Abschrift habe einsehen können. Herr Ham hat festgestellt, daß dieses wertvolle, von einer Dipterocarpacee<sup>2)</sup> erzeugte Produkt viel reichlicher und regelmäßiger fließt, wenn die Baumwunden vorher mit Harzstücken infiziert werden, wie diejenigen ohne Infektion.

Ohne Zweifel enthielten die für die Infektion verwendeten Proben Mycelien oder Sporen eines Parasiten, welcher sich ähnlich wie *Coryneum* beim Gummifluß beträgt, und es ist klar, daß sich hier der praktischen Botanik ein reiches Arbeitsfeld eröffnet, um die in Betracht kommenden wichtigen Körper rationeller und reichlicher zu produzieren, wie bisher. Hierbei wäre die Reinkultur der bezüglichen Parasiten zunächst notwendig, und ferner eine genaue Studie der besten Methoden, um künstlich angebrachte Wunden damit zu infizieren. Mit *Coryneum* gelangt man auf einfache Weise zur allgemeinen Infektion vieler Wunden, wenn man die verwundeten Aeste oder Bäume durch Bespritzen mit Wasser befeuchtet, worin die Sporen suspendiert sind. Die Kapillarität führt Wasser und Sporen leicht in Stich- und Schnittwunden, welche bei diesem Verfahren nicht zu umfangreich und nicht zu zahlreich sein dürfen, weil der Erfolg unfehlbar ist, und der Parasitismus leicht zu weit um sich greift, und dann zum Absterben von Teilen führt, welche, beim mäßigen Eingriff der Parasiten lange und profuse Exkrete erzeugen können.

Mikrobiologisches Laboratorium der Technischen  
Hochschule zu Delft.

---

1) Harzfluß bei den Dikotylen. (Archiv for Mathematik og Naturvidenskab af Hølland, Sars, Torup. Vol. XXVI. 1905. Heft 4. p. 1), wo auch die weitere Literatur angeführt ist.

2) Nach Boerlage handelt es sich dabei um eine noch nicht beschriebene *Hopea*-Art.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber ein durch Bakterien hervorgerufenes Kirschensterben.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von Dr. Rud. Aderhold und Dr. W. Ruhland.

In den letzten Jahren ist mehrfach ein epidemisches Absterben von Kirschbäumen, meist unter Auftreten von Gummifluß beobachtet worden. Der bekannteste und wohl bisher weittragendste dieser Fälle betraf die rheinischen Lande; dieses „rheinische Kirschensterben“ wurde durch den einen von uns eingehend studiert<sup>1)</sup> und im wesentlichen auf die kombinierte Wirkung von Witterungsverhältnissen und eines Ascomyceten, speziell dessen Konidienform *Cytospora leucostoma*, zurückgeführt. Gleiche oder ähnliche Krankheitsfälle sind auch aus anderen Gegenden des westlichen und östlichen Deutschland bekannt geworden.

Indessen war es von vornherein klar, daß nicht alle unter Gummiflußerscheinungen verlaufenden epidemischen Kirschbaumkrankheiten notwendig durch dieselben Umstände hervorgerufen sein mußten; es war vielmehr das Augenmerk des einen von uns im Hinblick auf den „Pear-blight“ in Amerika schon frühzeitig auf etwaige bakterielle Prozesse hingelenkt. Trotz vielfacher darauf gerichteter Untersuchungen konnte aber lange Zeit die bakterielle Natur keine derartigen Krankheiten nachgewiesen werden.

Im Juni dieses Jahres ging der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft zu Dahlem aus Dammkrug in der Mark die Mitteilung zu, daß in einer dortigen Baumschule eine große Anzahl junger Kirschbäumchen unter Gummifluß abgestorben bzw. im Absterben begriffen sei. Die Krankheit zeigte sich besonders an zweijährigen Wildlingen und 3–5-jährigen, in Kronenhöhe veredelten Kirschbäumchen. Am Stamme derselben war an einer oder mehreren, durch reiche Gummimassen kenntlichen Stellen von wechselnder, zum Teil erheblicher Größe die Rinde getötet. Griff eine derartige Wunde, wie es häufig der Fall war, völlig um den Stamm herum, so trocknete das überstehende Ende desselben schnell ab.

Es kam dadurch eine Erscheinung zu stande, die äußerlich an das Absterben der Kirschbäume am Rhein erinnerte. Es fehlten aber auf den untersuchten Bäumen die für jenes Sterben charakteristischen Knötchen der *Valsa leucostoma* (Pers.) Jacc.

Die mikroskopische Untersuchung lehrte, daß in den aus den Wunden austretenden, namentlich aber in den unter der Rinde verborgen bleibenden Gummimassen zahllose Bakterien vorhanden waren. Schnitte durch die Rinde wiesen ferner im Parenchym der sekundären, seltener auch der primären Rinde zahlreiche Gewebslücken auf, die mit Bakterien-schwärmen angefüllt waren. In die Lücken hinein ragten die Fetzen der korrodierten Zellen. Am wenigsten angegriffen schienen die Bastfasern. Dieser Umstand verlieh der ganzen Rinde in den meisten Fällen auf tangentialen Längsschnitten eine sehr charakteristische netzig-faserige Struktur.

Es gelang aus solcher Rinde ein von uns als *Bacillus spongio-*

1) Arbeiten aus der Biologischen Abteilung am Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. III. p. 309.

sus Aderh. et Ruhl. bezeichnetes Bacterium zu isolieren, das nach dem Ergebnisse der vorgenommenen Infektionsversuche als der wirksame Parasit bezeichnet werden muß. Seine nähere Beschreibung wird später folgen.

Die Impfungen fanden Mitte und Ende August dieses Jahres an Freilandkirschen, und zwar Wildlingen, in der Weise statt, daß Tröpfchen von Gelatine, welche durch *Bacillus spongiosus* verflüssigt worden war, in Okulationsschnitte unter die Rindenlappen gebracht wurden. Während entsprechende Kontrollversuche erfolglos blieben, wurde an den Impfwunden Ende September reicher Gummifluß und ein zum Teil sehr weitreichendes Absterben der benachbarten Rindenpartieen beobachtet. Aus den abgestorbenen Wunden konnte wiederum durch Plattengießen der Parasit isoliert und identifiziert werden. Zugleich gab die Untersuchung dieser Infektionswunden ein deutliches Bild von der heftigen, parasitären Natur des Bakteriums. Es erwiesen sich Rindenpartieen bis 7 und 8 cm von der Infektionsstelle entfernt als getötet und bakterienhaltig.

Nach den hier gemachten Beobachtungen ist es wahrscheinlich, daß diese Bakterienkrankheit nicht bloß in Dammkrug, sondern auch anderwärts in Deutschland verbreitet ist. Wir glauben annehmen zu dürfen, daß mancher der in den letzten Jahren berichteten Fälle von plötzlichem Absterben von Kirschbäumen, die man mit dem rheinischen Kirschensterben identifiziert hat, bakterieller Natur sind.

Wir behalten uns vor, diese Angelegenheit weiter zu verfolgen und bitten alle Fachgenossen, etwa zu ihrer Kenntnis kommende Krankheitsfälle dieser Art uns mitteilen zu wollen. Das Augenmerk wird nicht bloß auf Kirschen zu richten sein, sondern auch auf andere Steinobstbäume und sogar auf Kernobst, da wir in Dammkrug und auch anderwärts ganz analoge Erscheinungen auch an Pflaumen und Aepfeln wahrgenommen haben.

Dahlem, Kaiserl. biologische Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. 2. Oktober 1905.

## Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

*Nachdruck verboten.*

Botanisches Institut der technischen Hochschule in Graz. Vorstand:  
Prof. Friedrich Reinitzer.

### Morphologisch-biologische Untersuchungen über ein neues Essigsäure bildendes Bakterium<sup>1)</sup>.

Von Dr. Fr. Fuhrmann.

Diese Aethylalkohol zu Essigsäure umwandelnde Bakterienart, *Acetobacter plicatum* genannt, wurde aus einer dem Fasse steril entnommenen Weinprobe reingezüchtet und unterscheidet sich in einigen morphologisch-biologischen Merkmalen von den bisher beschriebenen Essigbakterien.

Anlaßlich dieser Untersuchung konnte auch festgestellt werden, daß

1) Beihefte zum Botan. Centralbl. Bd. XIX. Abt. I. 1905. Heft 1.

die Trauben am Weinstocke frei von Essigkeimen waren und daß gerade die Presse der Ort der Infektion des Weines mit Essigbakterien ist.

*Acetobacter plicatum* bildet auf der Weingelatineplatte bei 22° C gezüchtet nahezu kreisrunde, kuppenförmige, scharf begrenzte Auflagerungen von schwach gelblicher Eigenfarbe. Die Kolonien sind feuchtglänzend und beim Abimpfen fadenziehend. Eine Peptonisierung der Gelatine findet auch nach wochenlangem Wachstum nicht statt. Die tiefliegenden Kolonien sind nach den ersten 12 Stunden kugelförmig. Die oberflächlichen entstehen aus den tiefliegenden dadurch, daß sich die genannten jungen kugeligen Kolonien in der Fläche ausbreiten und Scheibchen darstellen. Solche Scheibchenkolonien lagern sich so lange übereinander, bis die Oberfläche erreicht ist, worauf dann die typische, knopfförmige Auflagerung entsteht.

Auf neutraler Fleischwassergelatine ist das Wachstum in der Tiefe anfangs besser als an der Oberfläche, was an Stichkulturen sehr schön zu beobachten ist. In derartigen Kulturen entstehen längs des Impfstiches ungefähr 1 cm unter der Oberfläche horizontale, konzentrisch angeordnete, kreisförmige Trübungen, deren Durchmesser gegen die Oberfläche und Tiefe abnehmen. Die untersten Partien des Stichkanals enthalten nur kleine punktförmige Kolonien.

Mit Methylenblau gefärbte Ausstrichpräparate zeigen Stäbchen von 1,4–1,6  $\mu$  Länge und 0,4–0,6  $\mu$  Breite. Nur die auf alkoholfreier Gelatine gezüchteten Bakterien sind homogen blau gefärbt. Die auf Weingelatine gewachsenen Keime dagegen zeigen eine bipolare Färbung und haben in der Mitte eine fast ungefärbte, nicht scharf begrenzte Stelle. Die in Teilung befindlichen Stäbchen sind etwas zugespitzt und polar intensiv gefärbt, während die mittlere nicht tingierte Partie von einem dunklen Bande durchzogen erscheint. Bei der kompletten Teilung wird dieses Querband in der Mitte durchschnürt.

Auf der schief erstarrten Wein- oder Fleischwassergelatine bildet unser Bakterium nach einigen Tagen eine zusammenhängende, zart weißgelb gefärbte Auflagerung mit zierlicher, quer zum Impfstrich verlaufender Faltenbildung.

Das Wachstum auf Biergelatine ist ähnlich, nur hat die Auflagerung eine mehr schleimige Beschaffenheit. Nach längerer Zeit nehmen Biergelatinekulturen eine rötliche Farbe an.

Kulturversuche mit verschieden alkalischer und saurer Biergelatine, mit oder ohne Alkohol, führten zu folgenden Ergebnissen: Auf alkoholfreier Biergelatine findet nur bei neutraler oder saurer Reaktion Wachstum statt. Auf alkoholhaltiger Biergelatine wächst unser Bakterium noch sehr gut bei einem Gehalt von 8 Tropfen konzentrierter Sodalösung in 10 ccm Nährsubstanz. Dabei wird kräftig Säure gebildet, denn die in der stark alkalischen Gelatine ausgefallenen Salze wurden gelöst und so der Nährboden glasklar gemacht. Bei Anwesenheit von Alkohol wird in neutralen Nährgelatinen keine Säure gebildet, wie der einfache Versuch der Zucht unter Zusatz von Lackmuslösung ergibt.

Auf schief erstarrtem Fleischwasser- und Bieragar bildet unser Bakterium dicke, vielfach gefaltete, schwach gelblich gefärbte und durchscheinende Auflagerungen, die sich in toto abheben lassen. Gefärbte Ausstrichpräparate von Agarkulturen, die bei 28 bis 30° C gezüchtet wurden, zeigen gedrungene Stäbchen von 0,75–0,9  $\mu$  Länge und 0,55–0,70  $\mu$  Breite. Die meist zu zweit vereinten Zellen

sind fast homogen gefärbt und von einer gallertartigen Hülle umgeben, die sich weder mit Jodlösungen blau färbt, noch die Cellulosereaktion gibt.

Das Temperaturoptimum liegt bei 28—30° C.

Auf der Scheibe von gekochtem Hühnerei vermehrt sich unser Bakterium nicht. Auch auf der Kartoffelscheibe findet nur spärliches Wachstum statt.

In sterilem Wein mit einem Alkoholgehalt von 3,5 Gewichtsprozent ist das Wachstum gut. Zuerst entsteht in der Tiefe ein mehr schleimiges Netzwerk, dessen Ausläufer bald die Oberfläche erreichen und dort zu Inselchen auswachsen, die verschmelzen und die zusammenhängende Kahmhaut bilden. Diese ist weißgrau, sehr zäh und erreicht oft eine Dicke von 8—10 mm. Die Flüssigkeit bleibt dabei vollständig klar. Die Kahmhaut gibt weder mit Jodlösungen Blaufärbung noch die Cellulosereaktion.

Die Struktur der Zoogloen auf alkoholfreiem Bier und Wein ist wesentlich verschieden. Erstere ist regelmäßig parallel zur Oberfläche geschichtet. Es folgt immer auf eine Lage Bakterien eine Schicht zellenfreier Gallerte. Auf Wein gewachsene Kahmhäute besitzen ein unregelmäßiges Netzwerk, dessen Maschenräume die Bakterien beherbergen.

Nur auf alkoholfreiem Bier begünstigt ein Zusatz von Rohr- oder Traubenzucker die Kahmhautbildung, während in alkoholhaltigem Bier letzterer die Zoogloenbildung ungünstig beeinflusst.

Bei *Acetobacter plic.* konnte zu keiner Zeit des Wachstums unter keinen Umständen ein Schwärmstadium beobachtet werden.

Die durch Hansen u. A. bei den verschiedenen Essigbakterien beobachteten Formveränderungen, bedingt durch die Zucht bei höheren Temperaturen, sind bei unserem Bakterium nur sehr wenig ausgesprochen. Im besten Fall waren bei der Zucht um 40° C Fäden von 50  $\mu$  Länge zu finden. Verzweigungen und Hervortreibungen fehlten stets. Beim Zurückbringen in niedere Temperaturen war der Zerfall der Fäden in Kurzstäbchen nur wenig deutlich sichtbar. Eine große Anzahl der verlängerten Stäbchen zeigte aber eigentümliche färberische Erscheinungen mit Methylenblau. Die sonst dunkel tingierten Stäbchen besaßen in der Nähe des einen Poles eine runde, ungefärbte, scharf begrenzte Lücke; je größer diese war, desto weniger intensiv war die übrige Zelle gefärbt. Schließlich fanden sich blaßblaue Stäbchen, deren Wand durch die von einem dunkelblau tingierten Saum umgebene helle Areole ausgebaucht war. Alle färberischen Merkmale dieser Gebilde sprachen für ihre Sporennatur. Sichergestellt ist sie jedoch nicht, da der Keimungsversuch damals unterblieb.

*Acetobacter plic.* gedeiht in Wein bei einem Alkoholgehalt von 11 Gewichtsprozenten, in Bier bei einem Gehalt von 9,5 Proz., wenn die Züchtungstemperatur 25° C nicht oder nur unbedeutend überschreitet, und nicht unter 22° C liegt.

Im allgemeinen verlangt unser Bakterium zum optimalen Wachstum auf viel Alkohol enthaltendem Wein und Bier eine niedere Temperatur (um 25° C), während es auf alkoholarmen Substraten bei höherer Temperatur am besten gedeiht.

Autoreferat.

Nachdruck verboten.

## Aus dem bakteriologischen Institut der Linné-Gesellschaft von Neu-Süd-Wales.

Von R. Greig Smith, Sydney.

Der bakterielle Ursprung der Gummiarten der Arabingruppe<sup>1)</sup>. XI<sup>2)</sup>. Die Ernährung von *Bacterium Acaciae*.

Der Leser wird sich erinnern, daß die Arabin- und Metarabingummiarten im Laboratorium zuerst durch Züchtung von *Bact. Acaciae* und *B. metarabinum* auf Saccharose, Kartoffelsaft, Tannin und Agar enthaltenden Medien gewonnen wurden. Das hergestellte Medium war zuerst ausgezeichnet zur Erzeugung von Schleim geeignet, wurde aber nachher leider unsicher in seiner Wirkung. Hieran konnten nur die Unterschiede in der Zusammensetzung von Kartoffelsaft schuld sein, welcher von Zeit zu Zeit von verschiedenen Posten Kartoffeln bereitet wurde. Weitere Untersuchungen zeigten indessen, daß die Tatsache, daß die Bakterien schnell die Fähigkeit zur Schleimproduktion aus Saccharose verloren, einen Grund für die erwähnten Verschiedenheiten bildete. Da das Kartoffelsaftmedium sich als so ungenügend erwies, so wurde eine Reihe von Versuchen unternommen, deren Zweck die Gewinnung eines Mediums war, welches sich den Anforderungen des Bakteriums bei der Schleimbildung besser anpaßte. Dies zog eine Untersuchung über die Ernährung des Bakteriums nach sich und beiläufig wurden eine Anzahl anderer Fragen mit in Betracht gezogen.

Beim Experimentieren mit den verschiedenen Nährstoffen wurden die Wirkungen durch das Gewicht des erzeugten Schleimes bestimmt. Der Schleim wurde jedesmal auf der Oberfläche von 20 ccm eines Agarmediums gezüchtet, welches man zuvor in gewöhnlichen Petrischen Schalen von 9 cm Größe hatte erstarren lassen. Das Material zum Infizieren der Platten wurde durch Züchtung der Bakterien auf Saccharose-Kartoffelagar (ohne Tannin) bei 30° während 24—48 Stunden hergestellt. Bei dieser Temperatur gedeihen die Bakterien außerordentlich gut und waren tatsächlich frei von Schleim. Nach einer von 3—7 Tagen schwankenden Inkubationsperiode wurde der Schleim von den zum Experiment benutzten Agarplatten so gründlich wie möglich entfernt und sofort gewogen. Doppelte Proben, welche gleichzeitig und unter denselben Bedingungen gemacht wurden, ergaben meist das gleiche Resultat. Wurden sie jedoch zu einer anderen Zeit und, wenn angängig, unter anderen Bedingungen angestellt, so waren die Ergebnisse nicht immer übereinstimmend. Die Hergabe von Schleim schien von der Vitalität der Bakterien zu der Zeit, wo sie infiziert worden waren, abzuhängen. Die größte Schleimlieferung, nämlich 25 Proz. (5 g aus 20 ccm Medium) wurde von dem günstigsten Medium erzielt, als Bakterienkulturen in kurzen Zwischenräumen während mehrerer Wochen nacheinander gemacht worden waren, etwa alle 2—3 Tage. Wenn die Bakterien etwa einen Monat ruhen durften, so waren die Schleimerträge weit geringer, und

1) Verhandlungen der Gesellschaft. 1904. Teil 2.

2) Synopsis der Arbeiten I—X. Siehe Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. X. p. 60—63. Bd. XI. p. 698—703.

wenn sie für einige Monate auf zuckerfreie Medien überimpft wurden, so büßten sie ihre gummibildende Kraft zeitweilig ein.

Eine Reihe von einleitenden Experimenten, bei denen die Wage nicht bemerkt wurde, zeigte, daß eine Menge von Schleim aus einem Agarmedium erzielt werden konnte, welches Lävulose, Asparagin, Kaliumcitrat und Tannin enthielt. Weitere Experimente wurden gemacht, um das Maximalquantum von jedem dieser drei Nährstoffe etc. zu entdecken, sowie auch vergleichsweise die Wirkung anderer Nährstoffe.

Das Bakterium reagierte prompt auf Lävulose; das Maximum wurde aus 2-proz. Zucker erzielt. Der Ertrag sank bei einer Steigerung des Zuckergehaltes auf 10 Proz. gradatim, so daß schließlich nur  $\frac{1}{10}$  des Maximums erzeugt wurde. Mit Bezug auf die anderen kohlenstoffhaltigen Nährstoffe erwies sich Saccharose ebenso nützlich wie Lävulose, falls der Organismus gewöhnt war, diese besondere Zuckerart zu benutzen. Glycerin, Mannit und Maltose waren nicht ganz so gut, während Dextrose, Galaktose, Laktose und Raffinose gar keinen Schleim lieferten. Sonderbar war es, daß, während Lävulose den Höchstertrag lieferte, Invertzucker gar nichts ergab. Experimentelle Versuche mit Mischungen von Lävulose und Dextrose zeigten, daß die Lieferung von Schleim abnahm in dem Maße als der Zusatz von Dextrose sich vergrößerte. Dextrose war daher nicht nur ohne Nutzen für die gummibildende Kraft des Bakteriums, sondern hinderte den Organismus auch, sich die Lävulose nutzbar zu machen. Ferner ergab es sich, daß Dextrose auch die Erzeugung von Gummi aus Maltose verhinderte. Galaktose verhielt sich wie Dextrose, indem sie keinen Schleim lieferte und die Nutzbarmachung von Lävulose und Maltose verhinderte.

Diese Experimente mit Zuckerarten beziehen sich direkt auf eine gewisse Hypothese, welche die Herkunft des Gummi von Cellulose betrifft. Die Botaniker scheinen darin übereinzustimmen, daß Gummi von Cellulose her stammt, vermutlich weil es sich auf gewissen Bäumen in Vorwölbungen vorfand, welche durch Schwellung und nachheriges Zergehen der Zellwände erzeugt worden waren. Es ist wahrscheinlich, daß die Zerstörung des Holzgewebes durch die Tätigkeit mikroskopisch kleiner Schimmelpilze verursacht ist, und daß das Gummi in die Höhlungen geflossen ist, genau so wie es in die Höhlungen von Mandeln und Pfirsichen fließt. Fragmente von Zellgewebe finden sich öfters in Gummi eingebettet wie bei der Tragantgummi, aber anstatt daß dies auf einen Celluloseursprung des Gummi hindeutet, weist es vielmehr auf das Vorhandensein von Insekten, z. B. auf Baumborner in dem Holze in der Nähe der Stiche hin, durch welche der Gummi ausgeschwitzt ist.

Ich habe gezeigt, daß das Gummi bakteriellen Ursprunges ist, so daß eine direkte Erzeugung durch Cellulose nicht in Frage kommt. Die Resultate mit den Zuckerarten zeigen, daß Dextrose, das hydrolytische Produkt von Cellulose, für die Erzeugung von Gummi wertlos ist. Und wenn wir die Bezeichnung im weitesten Sinne anwenden und die Hemicellulosen, Pektine und anderen Cellulosen einschließen, so wissen wir, daß Galaktose und Dextrose, welche meist die anderen Zuckerprodukte der Hydrolyse begleiten, die Gummibildung verhindern würden. Das experimentelle Zeugnis zeigt, daß Gummi durch Bakterien aus Lävulose und Maltose, die wandernden Zuckerarten von Brown und Morris, gebildet wird.

Wenn schwankende Mengen von Asparagin in den zur Schleimerzeugung bestimmten Medien enthalten waren, so ergab sich, daß das

Maximum auf 0,1 Proz. erzielt wurde, und daß größere Mengen keinerlei abändernde Wirkung auf die Tätigkeit der Organismen ausüben. Bei Vergleich von Pepton, Asparagin und Urea mit verschiedenen Zuckerarten etc. ergab Asparagin deutlich die besten Resultate. Mit Ausnahme von Lävulose, von der dasselbe Gewicht an Schleim erzielt wurde, variierten die Erträge der Ureaplatten, die ebensoviel Stickstoff wie die Asparaginplatten enthielten, von  $\frac{2}{3}$  bei Saccharose zu  $\frac{3}{5}$  bei Mannit. Pepton ergab tatsächlich keinen Schleim.

Bei der Prüfung der Wirkung verschiedener alkalischer Salze fand sich, daß die sauren Radikale in 4 Gruppen zerfielen: sie beschleunigten (1), beeinflussten gar nicht (2), mäßigten (3) oder vereitelten die Erzeugung von Schleim (4). Die erste Gruppe umfaßte Succinate und Citrate, die zweite Tartrate und möglicherweise Chloride, die dritte Sulfate, Phosphate und Oxalate, die vierte Acetate, Laktate und Formiate.

Bei der Untersuchung der etwa vorhandenen Salzmenge zeigte sich 0,1 Proz. Succinat oder Citrat als Optimum. Von diesen zwei Salzarten war die letztere bei weitem die bessere. Da das Bakterium unter seinen Säuren Bernstein-, Essig-, Ameisen- und Milchsäure produziert, so ist es von Interesse zu konstatieren, daß die erste von diesen Säuren die Erzeugung von Gummi beschleunigte, während die anderen sie verhiinderten. Man könnte geneigt sein, die Nebenprodukte von Hefen und Bakterien entweder als Verzögerungs- oder als Hinderungsmittel zu betrachten, aber Bernsteinsäure scheint nicht unter eine dieser Gruppen zu fallen. Soweit Hefen in Betracht kommen, beschleunigen Succinate unzweifelhaft die Gärung, aber vermutlich nicht mehr als die Phosphate.

Die Untersuchung der Wirkung von Tannin war sehr interessant. Die größte Menge war 0,1 Proz.; es konnte jedoch 0,3 Proz. benutzt werden. Ein größeres Quantum zerstörte den Zusammenhang des Agar während der Sterilisation. Nicht alle Tannine schienen die gleiche schleimerzeugende Kraft zu haben, da es sich nämlich herausstellte, daß eine frischere Partie nicht so wirksam war als eine ältere Probe. Um die Wirkung verschiedener bekannter Tannine auf das Medium zu prüfen, erhielt ich eine Anzahl von Proben von Messrs. Harrington Bros. aus London. Mit Hilfe des Bakteriums ließen sich diese in zwei Klassen teilen. Eine vermehrte die Schleimerzeugung; hierzu gehörte das von den Färbern benutzte Sumachtannin; die andere war entweder unwirksam oder verminderte die Schleimproduktion und enthielt die Gallapfeltannine, die reinen sowohl wie die von den Kattundruckern benutzten. Ein Zusatz von Glycerin und eine längere Zuchtungsperiode schränkte das durch die zweite Tanningruppe bewirkte Sinken der Schleimproduktion ein. Betreffs der Funktion des Tannins im Medium denke ich, daß es ein gewisses Zusammenziehen des Agargelees bewirkt und dadurch das Bakterium in den Stand setzt, sich langsam mit in Lösung begriffenen Nährstoffen zu versorgen. Die Bakterien können auch das zur Schleimerzeugung notwendige Wasser leichter bekommen (der Schleim enthält 97 Proz. Wasser), wenn Tannin vorhanden ist.

Die Optimumtemperatur für die Schleimbildung beträgt also 17° C. Bei steigender Temperatur wird weniger Schleim produziert. Bei 22° betrug er  $\frac{2}{3}$  und bei 30°  $\frac{1}{4}$  des Maximums.

Aus den kurz im vorhergehenden behandelten Experimenten geht



hervor, daß ein Optimummedium zur Schleimbildung im Laboratorium enthalten sollte:

Lävulose	20 g
Glycerin	10 „
Asparagin	1 „
Tannin (aus bestem Sumach)	1 „
Kaliumcitrat	1 „
Agar	20 „
Leitungswasser	1000 ccm

Dieses Medium ist nicht nur ein ausgezeichnetes Substrat, um *Bact. Acaciae* zur Schleimbildung zu befähigen, sondern ist auch ein Unterscheidungsmittel für andere Gummibakterien, von denen einige keinen Schleim auf ihm produzieren.

Da eine Möglichkeit besteht, den Gummifluß der Obstbäume durch Anwendung von Salzdünger einzuschränken, so wurden Experimente mit verschiedenen Salzen gemacht, die dem Optimummedium zugesetzt wurden. Sie zeigten indessen, daß nur wenig Aussicht zur Beschränkung des Gummiflusses durch irgend ein Salz, mit Ausnahme vielleicht von Kaliumnitrat, besteht. Auf einem mit Ausnahme von Glycerin nach obiger Vorschrift bereiteten Medium wurden 20 g Schleim von 100 ccm Agarmedium erzielt. Ein Zusatz von 0,2 Proz. Kaliumnitrat ließ den Ertrag auf 8 g sinken; größere Mengen von Salz hatten weiter keinen Einfluß. Dieselbe Einschränkung wurde mit 0,6 Proz. Natriumchlorid erzielt, während die doppelte Menge das Wachstum des Bakteriums zum Stillstand brachte.

In meinen Arbeiten über die Gummifabrikation der Pflanzen habe ich mich stets bemüht, das typische bakterielle Produkt im Laboratorium darzustellen. Die Darstellung von Arabin, Metarabin und Pararabin, sämtlich durch drei von Baumgeweben isolierte Bakterien, war ein stärkerer Beweis für die Erzeugung dieser Gummiarten in Pflanzen durch Bakterien, als ihre Erzeugung in Pflanzen nach einer Infektion durch Bakterien gewesen sein würde. Der Grund hierfür ist, daß wir nicht ganz sicher gewesen wären, ob die Bäume nicht Gummifluß unabhängig von der Infektion entwickelt haben würden, möglicherweise als das Ergebnis einer früheren oder späteren zufälligen Infektion durch denselben oder einen anderen Organismus.

Auf welche Art auch immer ein Infektionsexperiment mit *Bact. Acaciae* gemacht wurde, es geschah mit dem Gedanken zu untersuchen, ob eine von einem Mitgliede der Leguminosenfamilie isolierte Art Gummi bei einer Art der Rosaceen erzeugen könnte. Pfirsichbäume zeigten Gummifluß, nachdem sie mit *Bact. Acaciae* (von *Acacia binervata*) infiziert worden waren; aber das ausgeschwitzte Gummi war Metarabin. Es war nicht zu erwarten, daß der Baum unlösliches Metarabin produzieren sollte, nachdem er mit dem löslichen Arabinbakterium infiziert worden war. Etwas Licht fiel in die Angelegenheit durch die bakteriologische Untersuchung der infizierten Pflanze. In den Geweben fand sich *Bact. Acaciae*, *Bact. metarabinum* und Zwischenformen zwischen diesen beiden Organismen. Der Pfirsichbaum hatte anscheinend *Bact. Acaciae* rasch in *Bact. metarabinum* verwandelt, ein Prozeß, der sich im Laboratorium nicht nachmachen ließ. Es ist daher klar, daß die als Wirt dienende Pflanze fähig ist, die gummibildende Eigenschaft des Bakteriums zu modifizieren, und zwar so einschneidend, daß

der erworbene Charakter tatsächlich weiter besteht. Bei dem von *Acacia penninervis* isolierten *Bact. metarabinum* hatte die Bildung von Metarabin 2 Jahre hindurch fortbestanden, während welcher Zeit der Organismus im Laboratorium weiter gezüchtet worden war. Der Einfluß der Wirtspflanze auf das Bakterium erklärt, warum die Gummisorten verschiedener Baumarten so konstant in ihrem Charakter sind; die Fruchtbäume liefern tatsächlich immer das unlösliche Metarabin (Cerasin), während gewisse Akazien stets das lösliche Arabin ergeben.

Während der Untersuchung behielt ich die Möglichkeit im Auge, Gummi auf industriellem Wege zu produzieren, vielleicht aus den Abfallflüssigkeiten bei der Kartoffelstärkefabrikation oder aus Melasse, aber gegenwärtig scheint wenig Aussicht vorhanden zu sein, dasselbe aus diesen Stoffen herzustellen. Gummi bildet sich in flüssigen Medien nicht schnell und das Agarmedium scheint notwendig zu sein, um Gummi in Menge hervorzubringen. Melasse ist eine völlig genügende Nahrung für die Bakterien und der Zusatz anderer Nährmittel ist unnötig. Sie ergibt jedoch nicht einen Maximalertrag von Schleim, wahrscheinlich wegen ihres Uebermaßes an Salzgehalt.

Bei einem allgemeinen Ueberschlag ergibt sich, daß 20 Teile Agar, 20 Teile Saccharose, 10 Teile Glycerin und je ein Teil Asparagin, Tannin und Kaliumcitrat 250 Teile Schleim liefern würden, die 7,5 Teile trockenen Schleim oder 6 Teile Gummi enthalten. Die Kosten zur Hervorbringung dieser kleinen Menge Gummi würden ihren Wert bei weitem übersteigen. Wir müssen daher gegenwärtig das Gummi aus Bäumen gewinnen und seine Erzeugung durch Infektion mit passenden Arten steigern.

## Inhalt.

### Originalmitteilungen.

**Aderhold, Rud. und Ruhland, W.**, Ueber ein durch Bakterien hervorgerufenes Kirschensterben, p. 376.

**Beijerinck, M. W. und Bant, A.**, Wundreiz, Parasitismus und Gummifluß bei den Amygdaleen, p. 366.

**Hansen, Emil Chr.**, Oberhefe und Unterhefe, p. 353.

**Löhnis, F.**, Untersuchungen über den

Verlauf der Stickstoffumsetzungen in der Ackererde, p. 361.

### Originalreferate aus bakteriolog. u. gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

**Fuhrmann, Fr.**, Morphologisch-biologische Untersuchungen über ein neues Essigsäure bildendes Bakterium, p. 377.

**Smith, R. Greig**, Aus dem bakteriologischen Institut der Linné-Gesellschaft von Neu-Süd-Wales, p. 380.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Erreger des Fadenziehens beim Brote.

I. Mitteilung: *Bacterium panis*, ein neuer Erreger des Fadenziehens beim Brote.

Von Dr. Franz Fuhrmann,

Privatdozenten an der Technischen Hochschule zu Graz.

[Aus dem botanischen Institut der Technischen Hochschule in Graz;  
Vorstand: Professor Friedrich Reinitzer.]

Mit 1 Tafel und 1 Kurve.

Im Sommer dieses Jahres trat bei meinem Hausbrot eine Krankheit auf, die sich dadurch äußerte, daß es an den Schnitt- und Bruchstellen eine klebrige und fadenziehende Beschaffenheit hatte, wobei aber die Farbe der Krume keine Veränderung aufwies. Derartige Brotkrankheiten wurden des öfteren bekannt und dafür schon eine Reihe von Mikroorganismen verantwortlich gemacht. Im vorliegenden Falle gelang es mir, eine mit Kartoffelbacillen verwandte Bakterienart reinzuzüchten, die sich von den bisher bei dieser Brotkrankheit bekannt gewordenen unterscheidet und die ich mit dem Namen „*Bacterium panis*“ belege.

In der Literatur treffen wir die ersten diesbezüglichen Angaben bei Laurent<sup>1)</sup>, der einen *Bacillus panificans* aus verdorbenem Brot isolierte und damit normales Brot „viscös“ machte. Nach Laurent bewohnt der genannte *Bacillus* die Oberfläche von Weizen-, Roggen- und anderen Getreidekörnern und kommt beim Vermahlen derselben ins Mehl. Bei ungenügender Säuerung des aus derartig infizierten Mehlen hergestellten Brotes soll der die Backhitze überlebende *B. panificans* die Stärke in eine dem Erythroextrin ähnliche Masse verwandeln. So entsteht nach dem genannten Forscher diejenige Brotkrankheit, die sich in einer fadenziehenden und klebrigen Beschaffenheit der Krume äußert.

Kretschmer und Niemsłowicz<sup>2)</sup> berichten über verdorbenes Grahambrot in Wien, dessen Krume in eine bräunliche, klebrige und fadenziehende Masse von eigentümlichem Geruche umgewandelt war. Die mikroskopische und bakteriologische Untersuchung dieser Massen führte zur Isolierung von Stäbchenbakterien, die  $1\frac{1}{2}$ —2mal so lang als dick waren, abgerundete Enden aufwiesen und einzeln oder in Häufchen regellos in den verdorbenen Brotmassen lagen. Die Autoren identifizierten ihren *Bacillus* mit dem gewöhnlichen Kartoffelbacillus, *Bacillus mesentericus vulgatus* Flügge. Bezüglich der Bedingungen des Auftretens dieser Erkrankung kommen die genannten Forscher zu folgenden Feststellungen: Für die Entwicklung der Bakterien im Brote scheint neben einem gewissen Wassergehalt desselben

1) Laurent, E., Bull. de l'Acad. royale des scienc. de Belgique. Sér. III. T. X. 1885. Ref.: Vierteljahrsschrift f. Chemie d. Nahrungs- und Genußmittel. Jahrg. I. 1886. p. 222. — Naturwissensch. Rundschau. 1886. p. 144.

2) Kretschmer und Niemsłowicz, Ref.: Vierteljahrsschrift für Chemie der Nahrungs- u. Genußmittel. Jahrg. IV. 1889. p. 305 ff.

eine größere Porosität der Krume und eine genügende Durchlässigkeit der Rinde für die Luft von besonderer Bedeutung zu sein. Auch die Größe der Brote ist insofern von Belang, als bei kleinen Broten eine stärkere Erhitzung im Innern derselben möglich ist, was natürlich eine bessere Sterilisierung dieser Parteen zur Folge hat. Außerdem darf das Brot keine stark saure Reaktion aufweisen, da der isolierte *Bacillus* am besten bei schwach alkalischer, noch gut aber nur bei unbedeutend saurer oder neutraler Reaktion des Nährsubstrates gedeiht.

Uffelm ann<sup>1)</sup> untersuchte verdorbenes Roggenbrot, das aus feinem Roggenmehl hergestellt war und eine ziemlich poröse Krume besaß. In der Nähe der Rinde waren die Poren mit einem gelben und blaugrauen Staube erfüllt, davon nach innen gewahrte man Pilzrasen derselben Farbe. In zahlreichen Parteen der Krume, und zwar nicht in den Poren, waren dunkelgrüne Stellen von Linsen- bis Erbsengröße zu sehen, die scharf abgegrenzt erschienen. Außerdem war die ganze Krume bis ungefähr 3 cm zur Rinde mit braun-rötlichen Inseln von Stecknadelkopf- bis Haselnußgröße durchsetzt, die eine gleichmäßige, an Fleischextrakt erinnernde Konsistenz besaßen. Diese Massen waren klebrig, überaus fadenziehend und besaßen einen süßlichen Geruch und eine neutrale Reaktion. Die mikroskopische und bakteriologische Untersuchung der zuerst erwähnten gelblichen und grün-blauen Massen ergab reichliche *Aspergillus*-Vegetationen, während in den braun-roten Parteen Stäbchenbakterien in ungeheuren Mengen nachweisbar waren. Nach Uffelm ann bestanden die von den Bacillen durchwucherten Inseln „in der Hauptsache aus Dextrin und Gummi, Stärkemehl, Zucker, geringen Mengen Pepton“. Das Gelatineplattenverfahren, mit diesen Inseln ausgeführt, ergab Kolonien von zwei verschiedenen Kartoffelbacillenspecies, *Bacillus liodermos* und *Bacillus mesentericus vulgaris*. Ersterer verflüssigte die Gelatine unter Bildung eines grau-weißen Häutchens sehr energisch. Die polar abgerundeten Stäbchen waren kurz und sehr lebhaft beweglich. Auf der Kartoffel entstand anfangs ein gelblich-weißer Ueberzug, der sich rasch über die ganze Oberfläche ausbreitete und dann kleine Fältchen aufwarf. Der *Bacillus mesentericus vulgaris* peptonisierte die Gelatine ebenfalls sehr rasch und kräftig und bildete auf der trüben Flüssigkeit eine grau-weiße Haut. Kartoffelscheibenkulturen zeigten einen weißen, sich schon nach einem Tage deutlich faltenden Ueberzug. Die Eigenbewegung der dicken Stäbchen war mäßig. Die vom genannten Forscher mit den beiden Bacillen vorgenommenen Infektionen von frischem Roggenbrot ergaben Verfärbung und klebrige, fadenziehende Beschaffenheit der Brotkrume, doch waren diese Erscheinungen keineswegs so ausgesprochen, wie bei den ursprünglich untersuchten Broten.

Im Untersuchungsamte für Nahrungs- und Genußmittel zu Nürnberg<sup>2)</sup> kamen noch Fälle von fadenziehenden Broten zur Untersuchung; aus den genannten Proben wurde eine Stäbchenbakterie gezüchtet, die diese Veränderungen der Krume hervorrief und besonders den Kleber angriff.

Kreis schreibt in dem Berichte über die Tätigkeit des kantonalen

1) Uffelm ann, J., Verdorbenes Brot. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. VIII. 1890. p. 481 ff.)

2) Zitiert nach Vogel, Beitrag zur Kenntnis des fadenziehenden Brotes. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXVI. 1897. p. 399.)

chemischen Laboratoriums Basel-Stadt vom Jahre 1893 über ein fadenziehendes und dabei baldriansäureartig riechendes Brot, dessen Zersetzung ebenfalls durch Bacillen hervorgerufen zu sein schien. Der genannte Autor konnte im Jahre 1897 zwei weitere Fälle dieser Brotkrankheit beobachten, wobei das Brot aber einmal als stark sauer, das andere Mal als säuerlich zu bezeichnen war.

Vogel<sup>1)</sup> untersuchte die von Dr. Orth im hygienischen Institut zu Hamburg aus 16 verschiedenen fadenziehenden Broten isolierten Kartoffelbacillenspecies. Es handelte sich um zwei weiß wachsende Kartoffelbacillen, *Bacillus mesentericus panis viscosi* I und *Bacillus mesentericus panis viscosi* II, und einen roten Kartoffelbacillus. Von den genannten 16 Broten enthielten 14 die eine oder andere der Kartoffelbacillenarten in Reinkultur. In Tabelle II der Abhandlung des genannten Autors ist eine Zusammenstellung der kulturellen und morphologischen Merkmale der drei isolierten Bakterien gegeben, aus der ich nur kurz folgendes heraushebe: *B. mesentericus panis viscosi* I peptonisiert die Nährgelatine langsam und ist nicht beweglich. Seine an den Enden abgerundeten Stäbchen sind plump, 3–5  $\mu$  lang und nach Gram färbbar. Seine in der Mitte der Zelle liegenden, stark lichtbrechenden Sporen sind oval und vertragen ohne Schaden eine einstündige Einwirkung von strömendem Wasserdampf. Auf Nähragar gewachsene Kolonien sind grobkörnig und haben zarte, in den Nährboden verlaufende Ausläufer. Die Agarstrichkultur zeigt einen blau-grauen Belag. Auf der Kartoffel wächst der *Bacillus* I anfangs mit einer weißen, später einer grau verfärbten schmierigen Auflagerung, die nach längerer Zeit ein parallel gefaltetes, seidenartiges Aussehen gewinnt. In Milch gezüchtet, fällt er zuerst das Kasein aus und löst es später auf. Das Temperaturoptimum liegt bei 35–37° C. Er ist streng aërob. Bei mäßigem Säuregehalt des Nährbodens wächst *Bacillus* I noch sehr gut, wobei die Nährsubstanz alkalisch gemacht wird. — *Bacillus mesentericus panis viscosi* II verflüssigt die Gelatine sehr energisch. Die schlanken Stäbchen von 4–7  $\mu$  Länge sind lebhaft beweglich und werden, nach Gram behandelt, nicht entfärbt. Die in der Mitte der Zelle liegenden, ovalen, glänzenden Sporen ertragen eine Erhitzung in strömendem Wasserdampf durch 15 Minuten. Auf schief erstarrtem Agar wächst *Bacillus* II mit einem trockenen, grau-weißen Belag. Das Temperaturoptimum liegt bei 40 bis 42° C. Das Bakterium ist ein fakultativer Anaërobiot. Seine übrigen biologischen Eigenschaften gleichen sehr denen des *Bacillus* I. Auf eine Charakteristik des roten Kartoffelbacillus brauche ich nicht besonders einzugehen, da nach Vogel dieses Bakterium bei der erwähnten Brotkrankheit keine Rolle spielt. Aus den Backversuchen des genannten Forschers geht hervor, daß *Bacillus* I die normale Backtemperatur in vierpfündigem Brote zu überstehen vermag und dann im Brote eine Zersetzung unter Bildung von aromatischem Geruch und klebriger Beschaffenheit desselben hervorbringt, während *Bacillus* II nur zuweilen diese Temperatur aushält und dann die Brotmasse in charakteristischer Weise fadenziehend macht. Vogel untersuchte noch eine Reihe von 26 Stämmen des *Bacillus mesentericus*, von denen 9 das Fadenziehen im Brote hervorzubringen vermochten. Sämtliche der genannte Autor

1) Vogel, J., Beitrag zur Kenntnis des „fadenziehenden Brotes“. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXVI. 1897. p. 396 ff.)

den *Bacillus I* in 3-proz. Kleister und hielt die Proben bei 37° C, so blieben sie selbst nach mehreren Tagen unverändert. *Bacillus II* dagegen ist kräftig diastatisch wirksam, denn schon nach 2 Tagen war der Kleister in eine Flüssigkeit mit beträchtlichem Traubenzuckergehalt umgewandelt.

Auf Kleberscheiben gediehen beide Bacillen gut und verfärben und erweichen die Proben unter Bildung von mehr oder weniger giftigen Substanzen, wie einige Tierversuche zeigten. Mit Kleberkulturen gefütterte weiße Mäuse erkrankten schwer, erholten sich bei anderem Futter jedoch bald. Graue Mäuse waren immun. Junge Hunde bekamen nach dem Genusse 6-tägiger Kleberkulturen leichte Diarrhöen. Meerschweinchen verhielten sich gegen subkutane und intraperitoneale Einspritzungen von Kleberkulturauszügen refraktär. Einzelne Personen, welche von fadenziehendem Brote aßen, beklagten sich über Leibschmerzen.

Nach Vogel erkrankt das Brot nur dann an der durch die genannten Bakterien verursachten Krankheit, wenn es bei einer Temperatur über 23° C längere Zeit aufbewahrt wird, einen genügenden Feuchtigkeitsgrad bei nicht stark saurer Reaktion aufweist und eine größere Porosität besitzt.

Von 5 Mehlproben, aus denen die verdorbenen Brote hergestellt waren, machte Vogel Backproben, ohne ein fadenziehendes Brot dabei erhalten zu haben. Ebenso negativ fielen die Resultate bei der Untersuchung von verdächtigen Hefe- und Sauerteigproben aus.

Juckenack<sup>1)</sup> untersuchte ebenfalls fadenziehendes Brot, nach dessen Genuß bei Kindern angeblich Erkrankungen beobachtet worden waren. Die von genanntem Autor untersuchten Brote hatten eine von sehr zahlreichen braunen Pünktchen durchsetzte Krume, von denen sich Fäden abziehen ließen. Die mikroskopische Untersuchung der verfärbten Massen ergab wesentliche Veränderungen des Klebers und der Kohlehydrate bei Anwesenheit massenhafter Bakterienkolonien. Den zersetzten Stellen entströmte ein ekelregender, aromatischer Geruch. Es handelte sich um Reinkulturen des *Bacillus mesentericus fuscus* Flügge. Die Untersuchung des zu diesen Broten verwendeten Mehles, das bereits Merkmale des Verdorbenseins aufwies, ergab das Vorhandensein großer Massen des in Rede stehenden Bacillus. Die aus solchem Mehl hergestellten Brote wurden auch in der kürzesten Zeit fadenziehend. Juckenack kommt zu dem Schluß, daß eine feuchte und ungünstige Lagerung des Mehles die Hauptursache für das Auftreten dieser Brotkrankheit ist, da sich dabei der *B. mesentericus fuscus* im Mehle reichlich vermehren kann und dann in großer Anzahl in das Brot gelangt.

In neuerer Zeit erschien noch eine Abhandlung über fadenziehendes Brot von Thomann<sup>2)</sup>, der Brote und Mehle darauf untersuchte und aus der Brotkrume einen „*Mesentericus*-ähnlichen“ Bacillus isolierte, der die fragliche Erkrankung im gesunden Brote erregte. Daneben züchtete er noch den bereits von Vogel (l. c.) beschriebenen roten Kartoffelbacillus rein. Die geprüfte Hefe war von *Mesentericus*-Arten frei, während von den drei Mehlproben (Gemische von Weizen- und Roggen-

1) Juckenack, A., Beitrag zur Kenntnis des „fadenziehenden Brotes“. (Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. XXXIX. 1900. p. 73 ff.)

2) Thomann, J., Beitrag zur Kenntnis des „fadenziehenden Brotes“. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. II. Bd. IV. 1900. p. 740 ff.)

mehl) zwei *Mesentericus*-Bacillenarten in beträchtlicher Menge enthielten. Das auf die Anwesenheit von Kartoffelbacillen untersuchte reine Weizenmehl ergab negative Befunde. Die quantitative Bestimmung des *Mesentericus*-Bacillengehaltes in dem einen Mehlgemische ergab für den Kubikcentimeter ungefähr 800 Keime. Der genannte Forscher erklärt seinen Bacillus für höchstwahrscheinlich identisch mit dem von Vogel isolierten *Bacillus mesentericus panis viscosi* II.

v. Czadek und Kornauth<sup>1)</sup> untersuchten besonders die näheren Bedingungen zum Zustandekommen des Fadenziehens beim Brote. Sie erkannten als eigentliche Infektionsquelle das Mehl, welches wahrscheinlich immer Kartoffelbacillenarten enthält, also Keime einer Bakterienart, die das Fadenziehen im Brote hervorzubringen vermag. Von der Krankheit wird hauptsächlich das mit Hefe hergestellte Brot befallen. Sie isolierten aus den untersuchten Mehl- und Brotproben immer nur einen, dem *Bacillus mesentericus panis viscosi* I Vogel nächst verwandten Bacillus, der sich nur durch das Vorhandensein der Eigenbewegung vom genannten unterschied und mit dem von Král als *Bacillus panis viscosi* I Vogel bezogenen Mikroorganismus, der ebenfalls entgegen der Angabe Vogels peritrich begeißelt und eigenbeweglich war, völlig identisch erschien.

Auf die zwei von Tillmanns<sup>2)</sup> isolierten Bacillen aus fadenziehendem Brot komme ich in den folgenden Mitteilungen über Sporenbildung neuerer Bakterien noch eingehendst zurück.

#### *Bacterium panis.*

Wie schon eingangs erwähnt, beobachtete ich das Fadenziehen beim hausgebackenen Brote im Juni dieses Jahres zu einer sehr heißen Zeit. Die großen, länglichen Brote hatten in den drei Raumdimensionen ungefähr 30, 18 und 8 cm. Der Teig wurde aus einem Teil Korn- und zwei Teilen feinen Weizenmehles unter Zugabe von Preßhefe, etwas Zucker, dem nötigen Quantum Kochsalz und etwas Kümmel bereitet, 20 Minuten geknetet und 2 Stunden in der Wärme steigen gelassen. Die Backdauer betrug ungefähr 1 $\frac{1}{4}$  Stunden. Das Brot war kleinlochig, gut durchgebacken und nirgends zusammengesessen. Es wurde in ein Tuch eingeschlagen, in der Speisekammer bei rund 22° C gelagert. Der mittlere Wassergehalt der Krume, nach 3—4-tägiger Aufbewahrung, war 40—45 Proz., die Reaktion deutlich sauer. Nach 5—6-tägiger Aufbewahrungsdauer begann die Erscheinung des Fadenziehens aufzutreten.

An der frischen Anschnittstelle gewahrte man stark durchfeuchtete Inseln, die deutlich fadenziehend waren. Solche in der Farbe nicht veränderte Partien erstreckten sich bis ungefähr 2 cm zur Rinde und waren sehr zahlreich. Die fadenziehenden Massen hatten eine deutlich saure Reaktion. Dem eben zerschnittenen Brote entströmte ein nicht unangenehmer, würziger, an Obst erinnernder Geruch.

Bei der Untersuchung frisch gebrochener oder angeschnittener Stellen des Brotes mit der Lupe waren an der Porenwandung in das Lumen vorspringend, glänzend weißliche, lebhaft an Tautröpfchen er-

1) Czadek, O. v. und Kornauth, K., Ueber fadenziehendes Brot. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. V. 1902. p. 885.)

2) König, J. und Spieckermann, A., Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußm. Bd. V. 1902.

innernde Knötchen von 0,5 mm maximaler Größe zu beobachten, von denen sich nach der Berührung mit einer Nadel Fäden abzogen. Die genannten Knötchen waren durch ein Netzwerk feinsten Ausläufer untereinander größtenteils verbunden. Zwischen und darunter liegende Krummassen waren anscheinend nicht verändert und nicht fadenziehend.

Wurde nun ein eben beschriebenes Knötchen abgehoben und davon ein Ausstrichpräparat gefertigt, so ergab die mikroskopische Untersuchung desselben zahllose Stäbchenbakterien mit abgerundeten Enden. Eine große Anzahl der Bakterien enthielt annähernd in der Zellmitte eine ungefärbte größere oder kleinere Lücke mit dunkelgefärbtem Saume, die sich bei der späteren Untersuchung als endogene Spore erwies. Die immer nur eine Spore enthaltende Zelle ist in der Mitte ein wenig aufgetrieben, hat also eine Clostridium-Form. Die fertigen Sporen, die sich nach der Hauserschen Sporenfärbungsmethode leicht tingieren lassen, sind eiförmig, fast streng oval und ungefähr halb so groß als eine junge Bakterienzelle. Fig. 8 ist das Photogramm eines derartigen, nach Gram gefärbten Ausstriches. Die Sporen erscheinen hier als helle Lücken in den Stäbchen; sporenfreie Zellen sind nur in der Minderzahl vorhanden.

Durch Auflegen eines gereinigten Objektträgers auf eine frische Anschnittstelle des Brotes und Wiederabheben desselben erhält man einen Abklatsch der beschriebenen Knötchen mit ihren Ausläufern und bekommt eine gute Vorstellung von der Verteilung der Bakterieninseln im Brote. Diese sind regellos über die ganze Brotkrume in großer Anzahl verteilt.

#### Wachstum des *Bacterium panis* auf verschiedenen Nährsubstraten.

Die mit Aufschwemmungen der fadenziehenden Massen in sterilem Wasser nach dem Kochschen Verfahren hergestellten Gelatine-Plattenkulturen ergaben Kolonien von vollständig gleichartigem Aussehen. Nach 24-stündigem Wachstum bei 22° C hatten sich an der Oberfläche der neutralen Nährgelatine ganz flache, wenig gebuchtete, scharfrandig begrenzte, seichte Verflüssigungsmulden gebildet, die von einer schwachgetrübten Flüssigkeit ausgefüllt waren und an deren Boden sich ein Häufchen eines gelbweißen Niederschlages angesammelt hatte. Die peptonisierten Massen waren stark fadenziehend. Erst am zweiten Tage kam es zur Bildung eines zarten, zerreißen Häutchens an der Oberfläche. Die tiefliegenden Kolonien waren rund, linsenförmig, besaßen eine durchscheinende, weißgelbe Eigenfarbe und hatten nach 24 Stunden 0,1–0,2 mm im größten Durchmesser. Bei starker Vergrößerung konnte man an ihnen eine gezackte Kontur mit zahlreichen in die umgebende Gelatine ziehenden Ausläufern beobachten.

Im gefärbten Ausstrichpräparat gewahrt man plumpe, lange Fäden bildende Stäbchen (vergl. Fig. 6), die nach Tinktionen mit Loefflers Methylenblau eine deutlich bipolare Färbung zeigen. Sie besitzen keine Eigenbewegung.

Die Gelatinestichkultur läßt nur an der Oberfläche ein Wachstum erkennen. Bei 22° C bildet sich in den ersten 12 Stunden ein breiter, spitz endigender Verflüssigungstrichter (vergl. Fig. 2) mit



scharf abgesetzten Rändern, an dessen Boden sich in Flocken Bakterienmassen ansammeln. Später zeigt sich auf der mäßig getrühten Flüssigkeit ein zartes, weißliches Häutchen ohne jede Faltenbildung. Nach 24 Stunden ist ein sackförmiger Verflüssigungstrichter (siehe Fig. 3 u. 4) entstanden, den eine fadenziehende Flüssigkeit von neutraler Reaktion ausfüllt. Die peptonisierten Massen geben noch deutlich die Eiweißreaktionen. Auch nach sehr langem Wachstum ist keine Verfärbung des Nährbodens zu beobachten. Indolbildung fehlt stets. Stark verflüssigte Kulturen lassen einen eigentümlichen, an Peptonlösungen erinnernden Geruch erkennen.

Auf neutralem Nähragar<sup>1)</sup> erhält man, entsprechend der Steifheit der Gallerte, zwei verschiedene Kolonieformen. Auf 2 Proz. Agar enthaltenden Nähragarplatten bilden sich nach 16 Stunden bei 37° C runde Auflagerungen von im Mittel 0,5 cm Durchmesser. Sie besitzen eine grauweiße Eigenfarbe und ein mattes, wachsartiges Aussehen bei eigenartiger Struktur. Im Zentrum der Kolonie befindet sich eine 1 bis 2 mm im Durchmesser betragende, nur schwach durchscheinende, kreisrunde Partie, die grob gekörnt erscheint und unter der sich ein Tröpfchen Flüssigkeit angesammelt hat. Diese Bildung umschließt ein weißer, völlig undurchsichtiger und nur einige Zehntel eines Millimeters messender Wall, auf den nach außen zu eine zarte, feinkörnige und durchscheinende Auflagerung folgt, deren Kontur wenig gebuchtet und oval oder kreisförmig ist (vergl. Fig. 7). Diese äußere Zone breitet sich an der Oberfläche des Nährbodens immer weiter aus und wirft nach einiger Zeit sehr niedere, radiäre Falten auf, wenn der Feuchtigkeitsgehalt des Nährsubstrates schon bedeutend gesunken ist. Enthält der Nährboden aber nur 1 Proz. Agar, haben die Oberflächenkolonien ein wesentlich anderes Aussehen, da von der verhältnismäßig kleinen, zentralen Partie zuerst mehrere, im Umkreis regelmäßig verteilte, scharfbegrenzte Zacken ausgehen, so daß ganz junge Kolonien eine Sternform besitzen. Später verbreitern sich diese Zacken und erhalten selbst Ausläufer, wodurch sehr regelmäßige, an Schneekristalle erinnernde Figuren entstehen. Diese Beläge haben aber eine mehr schleimige Konsistenz und feuchtglänzende Oberfläche. Beide besprochenen Kolonien erweisen sich beim Abimpfen als fadenziehend.

Ich möchte den durch den verschiedenen Agargehalt bedingten Dimorphismus unseres Bakteriums schon deshalb ganz besonders hervorheben, weil daraus hervorgeht, daß nach rein morphologischen Beschreibungen von Spaltpilzen ein Wiedererkennen und Bestimmen derselben die allergrößten Schwierigkeiten hat, wenn nicht die scheinbar oft unbedeutendsten Nebenumstände peinlich genau angegeben werden.

Die Agarstrichkultur, bei 37° C durch 16 Stunden gezüchtet, zeigt sehr reichliches Wachstum längs des Impfstriches. Auch hier ändert der Agargehalt den Charakter der Auflagerungen. Auf steiferem Agar bildet unser Bakterium grauweiße, dünne und trocken aussehende Auflagerungen, die von einem sehr zarten und durchscheinenden schmalen Saum umgeben und nur zierlich, kaum sichtbar gefaltet sind (vergl. Fig. 1). Das angesammelte Kondenswasser ist fast nicht getrüht und hat nur ein

1) Mit 2 Proz. Pepton sicc. Witte, 1 Proz. Traubenzucker, 0,5 Proz. Chlornatrium und 0,5 Proz. Glycerin in Fleischbrühe gelöst.

äußerst dünnes Häutchen. Nach 48 Stunden beginnt sich die Auflagerung schwach zu falten. Wird nur auf 1-proz. Agar gezüchtet, so entsteht längs des Impfstiches nach 24 Stunden bei 37° C eine feuchtglänzende, dünne, scharfgegrenzte, schwach weißgelbe, sehr durchscheinende und etwas irisierende Auflagerung. Die früher erwähnten Erscheinungen treten erst nach stärkerer Austrocknung des Nährbodens ein. Eine Verfärbung des Nährsubstrates ist selbst nach wochenlangem Wachstum nicht zu beobachten.

Der von einer jungen, bei 37° C gezüchteten Agarkultur angefertigte hängende Tropfen enthält Stäbchen von durchschnittlich 3  $\mu$  Länge und 1,2  $\mu$  Breite. Sie sind überall gleich breit und an den Enden abgerundet. Bei stärkerer Abblendung erscheint der Zellinhalt fein granuliert und matt. In älteren Zellen beobachtet man hie und da kleine dunklere Körnchen, die sich mit Jod dunkelgelb färben und vornehmlich in den Polregionen liegen. Die Bakterien zeigen keine Eigenbewegung, sondern nur die Brownsche Molekularbewegung, denn ein Zusatz von Chloroform oder anderen, die Zellen tötenden Substanzen vermindert nicht die zitternden Bewegungen. Sämtliche Stäbchen sind von einem zarten, ungefähr  $\frac{1}{4}$  der Zellbreite messenden Gallerthof umgeben, der sich mit Jodlösungen nur schwach gelb färbt, während der Zelleib intensiv tingiert ist.

Mit wässerigen Lösungen von Fuchsin oder Gentianaviolett werden die Stäbchen in der üblichen Färbedauer homogen und intensiv tingiert. Eine Ausnahme davon machen nur diejenigen Zellen, die bereits Sporen in verschiedenen Entwicklungsstadien enthalten. Die Gramsche Färbung fällt positiv aus.

Die bei verschiedenen Temperaturen auf Nähragar ausgeführten Züchtungsversuche ergaben als Temperaturoptimum für das Wachstum 37° C.

Bei dieser Temperatur ist das Wachstum auf neutraler Traubenzuckerbouillon sehr gut. Schon nach 17 Stunden hat sich ein sehr zartes, kaum sichtbares Häutchen gebildet, während die oberen Partien der Flüssigkeit eine beträchtliche Trübung aufweisen. Am Boden hat sich eine geringe Menge eines gelbweißen Niederschlages angesammelt; die unmittelbar darüberstehende Flüssigkeit erscheint fast vollständig klar. Später verbreitet sich die Trübung über die ganze Flüssigkeit von oben nach unten und die Menge des Niederschlages nimmt bedeutend zu. Dieser Niederschlag besteht aus zusammenhängenden Bakterienmassen, die nur nach langem und kräftigem Schütteln in der Flüssigkeit verteilt werden können. Auch ist der Bodensatz stark fadenziehend. Die allgemeine Trübung der Flüssigkeit kommt nicht durch eine Eigenbewegung der Mikroorganismen zustande, sondern ist auf einen fortdauernden Senkungsprozeß zurückzuführen. Wie die im Vakuum ausgeführten Züchtungsversuche ergeben, wächst unsere Bakterienart nur streng aërob. In der Bouillonkultur findet auch nur nahe der Oberfläche gutes Wachstum statt. Die dort gewachsenen Bakterien senken sich dann langsam zu Boden und verursachen so die Trübung und den Niederschlag.

Die von jungen Bouillonkulturen angefertigten mikroskopischen Präparate enthalten 3—6  $\mu$  lange, mehr schlanke, an den Enden leicht abgerundete Stäbchen, die keine Eigenbewegung besitzen und sich sehr häufig in längeren und kürzeren Kettenverbänden befinden. Besondere färberische Erscheinungen konnte ich an ihnen nicht beobachten.

In einer  $1\frac{1}{2}$ -proz. Lösung von Pepton sicc. Witte in Brunnenwasser wächst *Bacterium panis* nur spärlich. Nach 24 Stunden bei  $37^{\circ}$  C ist die Flüssigkeit nur wenig getrübt und hat einen geringen, weißgelben Bodensatz. Die  $2\frac{1}{2}$ — $3\ \mu$  in der Länge messenden, an den Enden leicht abgerundeten Stäbchen sind in kürzeren Ketten oder seltener zu zweit vereint.

Auf der sterilisierten Kartoffelscheibe bildet unser Bakterium bei Zimmertemperatur nach 18 Stunden einen ziemlich dicken, weißen, glänzenden, feuchten und schleimigen Belag. Nach 24 Stunden sieht der Ueberzug dünner und trockener aus und ist fein gefaltet mit seidenartiger Oberflächenstruktur. Beim Temperaturoptimum gezüchtet, wächst unser Bakterium auf der Kartoffelscheibe mit einem dicken, feuchten, mehr matt aussehenden, schleimigen Ueberzug von gelbweißer Eigenfarbe. Später tritt eine Verfärbung ins licht Gelbbraune ein. Dies geschieht mit dem Beginn der Sporenbildung, die gewöhnlich schon am Ende des dritten Tages kräftig einsetzt. Es unterbleibt jede Faltenbildung.

Wie schon angedeutet, werden von unserem Bakterium bei der Zucht auf der Kartoffel sehr bald Sporen gebildet. Diese sind oval oder eiförmig und messen im längeren Durchmesser bis  $1,3\ \mu$ , im kürzeren  $0,5$ — $0,8\ \mu$ . Um ihre Resistenz gegen strömenden Wasserdampf von  $100^{\circ}$  zu prüfen, wurden sie an sehr dünnen, durch Auskochen keimfrei gemachten Seidenfäden angetrocknet und diese dann verschieden lang in den Dampftopf eingehängt. Nur die frei im strömenden Dampf hängenden Enden wurden mit einer sterilen Schere abgeschnitten und entweder in neutrale Nährbouillon oder neutralen Nähragar gebracht. Die weniger als 30 Minuten erhitzten Proben enthielten keimfähige Sporen, aus denen Kulturen angingen, während die 30 Minuten und länger gedämpften Sporen getötet waren.

Auf der gekochten Hühnereischeibe gedeiht *Bacterium panis* bei Brüttemperatur sehr gut. Schon nach 24 Stunden ist das beimpfte Eiweiß gelb verfärbt und durchscheinend. Das Eigelb zeigt nach dieser Zeit eine körnige Beschaffenheit und ist stark feucht durchsetzt. Nach einigen Tagen hat sich in dem Kulturgefäß eine hellgelbliche Flüssigkeit angesammelt, herrührend von dem gelösten Eiweiß. Der Eiweißrand wird immer kleiner und fast vollständig aufgelöst, wenn die Kultur vor dem Vertrocknen geschützt ist. Die bei kürzerer Zucht unseres Bakteriums noch nicht vollständig gelösten, aber bereits durchsichtig gemachten Partien des Eiweißes sind in kaltem Wasser schwer, in heißem und kochendem dagegen ziemlich leicht löslich. Die angesammelte Flüssigkeit riecht intensiv nach Peptonlösungen und gibt mit Lauge und  $\text{CuSO}_4$ -Lösung die Biuretreaktion mit violetter Farbe. Die fast klare, wässrige Lösung der spontan noch nicht gelösten Eiweißmassen zeigt ebenfalls die Biuretreaktion in rotvioletter Farbe. Bei der Zucht des *Bacterium panis* auf dem gekochten Hühnerei bei Zimmertemperatur bildet sich auf dem geimpften Eiweißrand eine mäßig dicke, gelbe Auflagerung. Erst nach mehreren Tagen wird er gelb durchscheinend und nur sehr allmählich und langsam verflüssigt.

Auf sterilisierten Scheiben von Weizenkleber ist das Wachstum unseres Bakteriums bei 37° C ausgezeichnet. Es entsteht in den ersten 24 Stunden ein mäßig dicker, sehr feuchter, klebriger und fadenziehender Belag von schwach gelber Farbe. Die ihn zusammensetzenden Stäbchen sind  $2\frac{1}{2}$ – $3\frac{1}{2}$   $\mu$  lang, mehr schlank und an den Enden abgerundet. Nach einigen Tagen breitet sich der Ueberzug über die ganze Oberfläche aus und die scharfen Ränder des Nährsubstrates verschwinden. Gleichzeitig sammelt sich am Boden des Kulturgefäßes eine geringe Menge einer schwach getrühten Flüssigkeit von alkalischer Reaktion an. Dabei hat sich die Konsistenz der Kleberscheiben geändert: sie wurden sehr brüchig und zerfallen beim Schütteln in Wasser in kleine Bröckeln. Auch eine nicht sehr auffallende Farbenveränderung ist eingetreten, denn die Klebermassen sind durchscheinender geworden und haben eine schwach graugelbe Farbe angenommen. Erst nach mehreren Wochen ist eine deutliche Braunfärbung derselben zu beobachten. Das mit heißem Wasser aus älteren Kleberkulturen hergestellte Extrakt filtriert fast klar durch das Papierfilter und hat eine lichtgelbe Farbe.

In sehr gutem Einklange mit den Befunden am fadenziehenden Brote steht die Tatsache, daß die brüchig gewordenen, stark durchfeuchteten Klebermassen beim Zerteilen keine Fäden ziehen, sondern nur jene Stellen, wo unmittelbar der Belag mit zerrissen wird. Die Klebermasse selbst wird also anscheinend nicht in eine fadenziehende Substanz umgewandelt, sondern die Bakterienkolonien sind einzig und allein fadenziehend. Beim Brote zeigte sich die Erscheinung ja auch nicht an den feuchten Stellen der Krume, sondern nur an den früher beschriebenen Knötchen. Außerdem legen sowohl die Ergebnisse bei der Zucht dieses Bakteriums auf der gekochten Hühnereischeibe als auch auf Kleber die Annahme nahe, daß von den Pilzen eine Substanz, ein Ferment, gebildet wird, welches die Lösung der betreffenden Eiweißkörper und vielleicht ihre weitere Zersetzung bedingt, wenn auch dabei die Stoffwechselprodukte der Zellen selbst nicht außer acht gelassen werden dürfen. Auf diese Verhältnisse will ich hier nicht näher eingehen, denn die zweite Mitteilung soll sich mit diesen Fragen und den dabei auftretenden chemischen Veränderungen der Eiweißkörper in extenso befassen. Aus diesem Grunde unterblieb auch in den vorhergehenden Auseinandersetzungen ein näherer Hinweis auf die Biochemie unseres Bakteriums.

In Milch entwickelt sich *Bacterium panis* bei Brüttemperatur gut. Am zweiten Tage zeigt sich unter der Rahmschicht eine schmale, sehr durchscheinende, gelblich gefärbte Zone. Unter dieser befindet sich ein Kaseinniederschlag von feinflockiger Beschaffenheit. Nach 48 Stunden ist der fast durchsichtige Ring schon ziemlich breit (vergl. Fig. 5). Nach 5-tägigem Wachstum ist der Kaseinniederschlag schon sehr verringert und bedeckt nur mehr in niedriger Schicht den Boden des Proberöhrchens. Darüber steht die schwach getrühte, gelbe Flüssigkeit. Der Bodensatz stellt eine durch Schütteln nur schwer in der Flüssigkeit verteilbare, zusammenhängende und schmierige Masse vor. Ein Fadenziehendwerden der Milch oder des ausgefällten Kaseins konnte ich selbst nach Wochen nicht beobachten.

Diesen Befunden entsprechend ist die Annahme gerechtfertigt, daß

zuerst eine Fällung des Kaseins in Form eines feinflockigen Niederschlages eintritt, wobei die Flüssigkeit eine schwach saure Reaktion aufweist; später wird der Niederschlag langsam gelöst, wobei die Flüssigkeit entweder neutral oder sehr schwach alkalisch reagiert. Ob nun die Kaseinfällung nur durch die schwache Säuerung der Milch in den ersten 48 Stunden bedingt ist oder ob hier sowohl als bei der späteren Lösung des Kaseins Fermente im Spiele sind, sollen die soeben im Gange befindlichen Versuche entscheiden, deren Ergebnisse in der folgenden Mitteilung behandelt werden.

*Bacterium panis* wächst in der Milch als plumpes, an den Enden abgerundetes Stäbchen, welches nach Gramscher Färbung eine homogene Tinktion aufweist. Daß auch in der Milchkultur die Wachstumszone unmittelbar unter der Rahmschicht liegt, also in nächster Nähe der Oberfläche, brauche ich nicht sonderlich hervorzuheben. Nach 5-tägigem Wachstum bei 37° C in Milch ist die Verteilung der Bakterien im Nährsubstrate ziemlich gesetzmäßig. Sich teilende Stäbchen sind nur noch an der Oberfläche in geringer Menge zu finden, wo auch hier und da beginnende Sporenbildung festzustellen ist. Zellen mit reifen Sporen gehören zu den Seltenheiten. Die mittleren Flüssigkeitsschichten enthalten nur wenige Keime. Der Niederschlag schließt eine große Anzahl von Bakterien ein, deren Formen und färberisches Verhalten nach Gram sehr verschieden sind. Neben gut erhaltenen Zellen mit normalem Aussehen gewahrt man aufgequollene, unscharf konturierte Bakterien, deren Inhalt aus gefärbten Granulationen besteht und deren zerfallende Membran als schwach rotviolett tingierter, ungleich dicker Streifen erscheint. Ab und zu liegen die erwähnten Granula auch außerhalb der Membran in den Niederschlagsmassen verteilt. Dann findet man Bakterienfäden von ungleicher Dicke und oft bedeutender Länge, die keine Gliederung mehr erkennen lassen und deren Inhalt die oben beschriebenen Erscheinungen zeigt. Diese Bildungen erinnern an den körnigen Zerfall der Choleravibrionen bei der Pfeifferschen Immunitätsreaktion, wenn auch die bei letzterer entstehenden Kügelchen und Tröpfchen ungleichmäßiger und größer sind.

In Petruschkys Lackmusmolke wächst *Bacterium panis* nur sehr langsam. Nach 48 Stunden bekommt die Flüssigkeit einen Stich ins Rote; nach 3 Tagen ist sie eben nachweisbar sauer. Später findet man gerade erkennbaren Umschlag in Blau. In dieser Zeit hat sich ein geringer Bodensatz gebildet, während die Flüssigkeit fast klar ist.

Kleister, aus Weizenstärke hergestellt, gibt für unser *Bacterium* keinen günstigen Nährboden. Es wächst nur sehr langsam, einerlei, bei welcher Temperatur gezüchtet wird. Die makroskopisch erkennbaren Veränderungen an einer Stichkultur in erstarrtem Kleister bestehen nur in einer unbedeutenden Erweichung des Substrates. Beim Schütteln und Aufstoßen derartiger, 5–6 Tage alter Kulturen gewahrt man eine leichtere Verschiebbarkeit der Kleistermassen, ungefähr so, wie man sie künstlich durch Zugabe geringer Wassermengen hervorbringen kann. Kurz, es findet eine geringfügige Lösung statt, die sich auch nach Wochen nicht sonderlich

bemerkbar macht und übrigens nur die obersten Partien betrifft. Eine Verfärbung und erheblichere Auflösung des Kleisters ist nicht zu beobachten.

Auch die mit Peptonlösungen versetzten Kleisterproben wurden durch unser Bakterium nicht anders und stärker verändert, wenn auch ein besseres Wachstum nachweisbar war.

Wachstum des *Bacterium panis* auf verschieden saurer und alkalischer Nährbouillon.

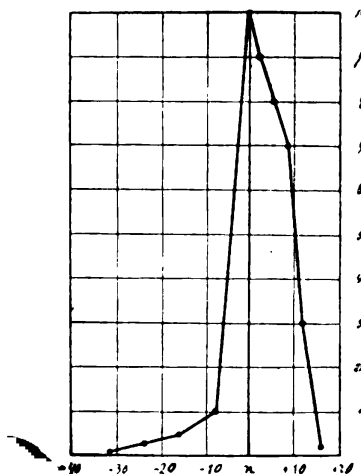
Es wurde nun versucht, zu entscheiden, bei welchem Säure- und Alkaligehalt *Bacterium panis* am besten gedeiht. Zu dem Ende verwendete ich verschieden saure und alkalische und neutrale Nährbouillon mit 1 Proz. Traubenzuckergehalt. In Tabelle I ist die ganze Versuchsanordnung zusammengestellt und die näheren Daten über den Prozentgehalt der Nährlösungen an Säure und Alkali angegeben. Die Wachstumsgröße bestimmte ich nur annähernd aus den durch direkte Zählung in der Zählkammer erhaltenen Zahlen der Bakterien in einem bestimmten Quantum Kultur, wobei Wachstumsgröße 1 willkürlich angenommen und alle anderen Zahlen darauf bezogen wurden.

Tabelle I.

No. des Röhrchens	Zusatz zu 9 ccm neutralisierter Nährbouillon: Kubikcentimeter			Prozentgehalt der Nährbouillon an		Wachstum bei 37° C nach 48 Stunden
	8 Proz. $C_2H_4O_2$ -Lösung	9-proz. kristallisierte $Na_2CO_3$ -Lösung	$H_2O$	$C_2H_4O_2$	$Na_2CO_3$	
1	0,4		0,6	0,32		Spur
2	0,3		0,7	0,24		0,3
3	0,2		0,8	0,16		0,5
4	0,1		0,9	0,08		1,0
5			1,0	0	0	100,0
6		0,1	0,9		0,029	90,0
7		0,2	0,8		0,058	80,0
8		0,3	0,7		0,087	70,0
9		0,4	0,6		0,116	30,0
10		0,5	0,5		0,145	2,0
11		0,6	0,4		0,174	—

Aus dieser Zusammenstellung ergibt sich ohne weiteres, daß bei neutraler Reaktion der Nährbouillon optimales Wachstum stattfindet. Noch sehr gut gedeiht unser Bakterium bei mäßigem Alkaligehalt, der einen Gehalt von 0,08—0,09 Proz. kohlensauren Natrons nicht überschreitet. Bei größeren Alkalimengen im Nährsubstrat nimmt das Wachstum rasch ab und hört bei ungefähr 0,15 Proz. Sodagehalt ganz auf. *Bacterium panis* verträgt im Nährboden einen größeren Säuregehalt, nur findet dann ein schlechtes Wachstum statt. Aufgehoben wird es aber erst bei einem Gehalt an Essigsäure von über 0,32 Proz.

Ueber die sprungweise Zu- und Ab-



nahme des Wachstums bei verschiedenen Säure- und Alkalimengen orientiert am besten vorstehende graphische Darstellung des Wachstumsverlaufes. Dabei entspricht 1 mm auf der Abszissenachse 0,01 Proz. Säure oder Alkali 1 mm, und zwar ist links die Säure und rechts von der Ordinate das Alkali aufgetragen.

Die Wachstumsintensitäten sind ebenfalls in Millimetern auf der Ordinatenachse verzeichnet. Die Bezeichnung n bedeutet die neutrale Probe. Demnach würde beispielsweise — 30 einem Essigsäuregehalt von 0,3 Proz. entsprechen.

#### Wachstum auf anorganischer Nährlösung mit besonderer C- und N-Quelle.

Um die Ansprüche unseres Bakteriums an Stickstoff- und Kohlenstoffquellen zu untersuchen, benützte ich eine anorganische, stickstofffreie Nährlösung, der einmal ein Amidokörper (Asparagin), das andere Mal eine Ammonverbindung (Ammontartrat) als besondere N-Quelle zugesetzt war. Außerdem züchtete ich *Bacterium panis* noch unter Beigabe einer besonderen Kohlenstoffquelle (Glycerin, Mannit, Rohrzucker, Traubenzucker und Stärkekleister). Die anorganische Nährlösung mit den genannten C-Quellen genügte unserem Bakterium als Nährboden nicht.

Auf rein anorganischer Nährlösung, die den Stickstoff nur als salpetersaure Salze enthielt, wächst *Bacterium panis* nicht, weshalb ich es unterlasse, diese Versuchsreihen in extenso wiederzugeben.

Als anorganische stickstofffreie Nährlösung diente mir die von Meyer<sup>1)</sup> angegebene Mischung, bestehend aus:

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g,  $\text{CaCl}_2$  0,1 g,  $\text{MgSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O}$  0,3 g,  $\text{NaCl}$  0,1 g,  
gelöst in 1000 destilliertem Wasser.

Von der Zugabe des Eisensalzes sah ich ab, da das verwendete  $\text{ClNa}$  ohnehin eisenhaltig war.

In Tabelle II habe ich die Versuche zusammengestellt und möchte dazu nur vorausschicken, daß die Gesamtdauer der Beobachtung 3 Wochen betrug, um ein späteres Eintreten von Wachstum nicht zu übersehen, und daß die Proben während dieser Zeit bei 37° C gehalten wurden. Alle Röhrchen impfte ich mit der möglichst gleichen Quantität einer Aufschwemmung von junger Agarkultur in Wasser. Die Reaktion der Proben 1—6 war fast neutral (Spur sauer), die Röhrchen 7—12 schwach sauer. (Siehe Tabelle p. 398.)

Aus den Versuchen der Tabelle II geht hervor, daß *Bacterium panis* auf organischer, stickstofffreier Nährlösung bei Darreichung von Asparagin, also einem Amidokörper, als N-Quelle nur zu wachsen vermag; wenn eine besondere Kohlenstoffquelle, Traubenzucker, Rohrzucker, Kleister oder Mannit beigegeben wird. Trotzdem ist das Wachstum sehr gering im Vergleich zur Ueppigkeit desselben auf eiweißhaltigen Nährböden. In der Intensität des Wachstums ruft die Art der zugefügten C-Quelle ganz bedeutende Unterschiede hervor, wie das aus den Versuchen No. III, IV, V und VI deutlich zu ersehen ist. Als beste Kohlenstoffquelle kann danach Stärkekleister gelten, dann Rohrzucker und Mannit. Viel weniger günstig wirkt Traubenzucker-

1) Meyer, Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903. p. 15.

Tabelle II.

No.	Anorganische Nährlösung mit Zusatz von	Wachstum bei 37 ° C nach	
		24 Stunden	5 Tagen
I	0,5 Proz. Asparagin	—	—
II	0,5 „ „ und 1 „ Glycerin	—	—
III	0,5 „ Asparagin und 1 „ Traubenzucker	—	Spur Wachstum, äußerst geringer Bodensatz
IV	0,5 „ Asparagin und 1 „ Rohrzucker	Spur Trübung d. Flüssig- keit. Minimaler Boden- satz	Leichte Trübung der Flüssigkeit mit schwach- em Bodensatz. Deut- lich saure Reaktion
V	0,5 „ Asparagin und 1 „ Stärkekleister	Geringes Wachstum. Die ursprüngl. grobflockige Kleistertrübung er- scheint fein verteilt	Allgemeine Trübung mit geringem Bodensatz. Von fein verteiltem Kleister ist nicht mehr viel zu sehen. Saure Reaktion
VI	0,5 „ Asparagin und 1 „ Mannit	Spur Trübung u. Wachs- tum	Allgemeine Trübung mit geringem Bodensatz. Stark saure Reaktion
VII	1 „ weinsaures Am- mon	—	—
VIII	1 „ weinsaures Am- mon und 1 „ Glycerin	—	—
IX	1 „ weinsaures Am- mon und 1 „ Traubenzucker	—	—
X	1 „ weinsaures Am- mon und 1 „ Rohrzucker	Spur Wachstum	Spur Trübung bei saurer Reaktion
XI	1 „ weinsaures Am- mon und 1 „ Stärkekleister	Spur Wachstum	Deutliches Wachstum bei saurer Reaktion. Auch hier Verminderung der Kleistertrübung
XII	1 „ weinsaures Am- mon und 1 „ Mannit	—	—

zusatz. Wie ich schon auf p. 395 erwähnte, ist Kleister allein und mit Pepton eine minderwertige Nährsubstanz für unser Bakterium. Es findet auch in der Tat auf den eben genannten Nährböden ein nur wenig besseres Wachstum statt als auf anorganischer Nährlösung mit Asparagin- und Kleisterzusatz. Bemerkenswert ist noch die Tatsache, daß die anorganische Nährlösung mit dem Zusatz der sub IV—VI angeführten Kohlehydrate durch *Bacterium panis* gesäuert wird.

Die Versuche No. VII—XII lehren uns, daß weinsaures Ammon noch weniger als Stickstoffquelle für unser Bakterium brauchbar ist, und daß ein minimales Wachstum nur bei Zugabe von Rohrzucker und geringes Wachstum nur bei gleichzeitiger Darreichung von Kleister erfolgt. Aus den Bemerkungen auf p. 395 geht hervor, daß *Bacterium panis* auch auf reinem Stärkekleister sich, wenn auch nur gering, entwickelt. Aus diesem Grunde



ist hier dem Ammontartrat nicht der Wert einer ausnützbaeren N-Quelle beizumessen.

Aus den Proben V und XI ist ersichtlich, daß auch hier in sehr geringem Grade eine Lösung des zugesetzten Stärkekleisters erfolgt, da die flockige Kleistertrübung etwas aufgehellt wird.

Es gehört also das *Bacterium panis*, entsprechend der von A. Fischer aufgestellten Gruppeneinteilung, zu den Peptonbakterien, also jenen Spaltpilzen, denen der Stickstoff als Eiweißkörper, zumindest Pepton geboten werden muß, wenn gutes Wachstum eintreten soll.

#### Tierversuche.

Nachdem nach dem Genusse des in Rede stehenden fadenziehenden Brotes zwei Personen an Diarrhöen und Leibschmerzen erkrankten, so lag der Verdacht nahe, daß *Bacterium panis* in seinen Kulturen giftige Stoffwechselprodukte oder vielleicht Toxine bildet. Die angestellten Tierversuche, mit Meerschweinchen und weißen Mäusen ausgeführt, hatten aber negative Resultate, ähnlich denen, die Vogel (l. c.) mit seinen Bacillen erhielt.

Ein erwachsenes Meerschweinchen erhielt 5 ccm einer jungen, bei 37° C gezüchteten Bouillonkultur intraperitoneal injiziert. In den ersten Stunden nach der Infektion stellte sich beim Tiere ziemlich heftiges Unwohlsein ein. Aber schon nach 15 Stunden hatte es sich vollständig erholt und zeigte die frühere Freßlust wieder.

Ein zweites Meerschweinchen bekam eine intraperitoneale Injektion von 5 ccm Extrakt einer 6 Tage alten, bei Brüttemperatur gewachsenen Kleberkultur. Zu dem Ende wurde eine von den Bakterien zersetzte Kleberscheibe eine Stunde lang bei 70° C mit Wasser extrahiert und durch ein Papierfilter filtriert. Die klar ablaufende Flüssigkeit wurde dann in der angegebenen Dosis zur Einspritzung verwendet. Nach leichtem Unwohlsein erholte sich auch dieses Tier sehr rasch.

Endlich wurden einem dritten Meerschweinchen 5 ccm einer Aufschwemmung von 6-tägiger Kleberkultur in Bouillon in die Bauchhöhle eingespritzt. Es trat auch hier nach kurzem Unwohlsein schnell Genesung ein.

An weißen Mäusen machte ich nur einige Fütterungsversuche mit älteren Kleberkulturen. Dabei verloren die Tiere ihre Munterkeit und wurden apathisch. Sobald sie wieder gewöhnliches Futter bekamen, erholten sie sich rasch. Auch Fütterungsversuche mit fadenziehendem Brot ergaben die gleichen Resultate.

Andere Tiere standen mir zu Versuchen nicht zur Verfügung.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Extended Studies of the Associative Action of Bacteria in the Souring of Milk<sup>1</sup>).

By Charles E. Marshall,

Bacteriological Laboratory, Agricultural College, Michigan.

Two articles have already appeared upon this subject published in the *Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. Nos. 24—25, and Bd. XII. Nos. 19—21.* The investigations here presented are simply a continuation of the articles named, with the purpose of furnishing a more intimate and extended acquaintance with this particular associative influence of bacteria upon the souring of milk. The studies will embody illustrative experimental data without any attempt to include all results, and will serve the writer's purpose in putting forth his summary without becoming too cumbersome; at the same time it will present the case in sufficient completeness for confirmation or further development, should either be undertaken. The material may be included and discussed under the following sub-topics:

- I. A brief and pertinent historical consideration.
  - a) General.
  - b) Comments.
  - c) Review of previous personal work.
- II. The significance of different milks and their relation to germ development.
- III. The changes produced in milk by germ B<sup>2</sup>).
- IV. The possibilities of acid production in milk during the early stages of development of germ B.
- V. The extent of this associative action in the souring of milk or the influence of other germs than germ B upon germ A<sup>3</sup>).
- VI. How the influence of germ B upon germ A may be demonstrated in making butter.
- VII. History of germ B.
- VIII. Summary.

### I. a) General.

Many associative fermentations are familiar to bacteriologists; on the one extreme one species is known to favor certain well defined changes by its influence upon another species, on the other extreme there are many instances in which decided antagonism is manifested by one species over another, thereby modifying fermentative results greatly. The extent of these associations with all degrees of possibilities cannot be determined in the present state of our knowledge; still there is much evidence which makes this phase of bacteriology not only important in its contributions to an advanced knowledge of the science, but, moreover,

1) Included with these studies will be a somewhat prolonged consideration of milk variation in its relation to bacteriological conclusions.

2) Germ B, the life history of which is given at the end of this article, is the bacterium which is known to exert a favorable influence upon the lactic bacterium studied. Throughout this paper, this micro-organism will be designated as germ B or culture B.

3) Germ A or culture A always refers to *B. acidilactici* of Weigmann, Thierfelder, Esten, and others.

in its application to economic problems. Wherever life is found, whether in the form of plants or animals, there may be seen to exist the determining influence of some definite or indefinite association.

An exhaustive historical review would be out of place in this article because of its possible great extent and of the numerous diversions into other fields it would suggest, all of which would be interesting but not especially pertinent, and would produce a scattering of ideas where concentration is wished. It is more direct to recall a few fermentations similar to the one studied in the hope of correcting any false or dwarfed ideas the reader may gather in a very limited survey, as represented in this work, of a single section of a very broad territory.

The nature of vinegar fermentation has long been known. In it is found that peculiar dependence of the acetic microorganisms upon the yeast cells or, in other language, the alcohol produced by the yeast cells<sup>1)</sup> is essential to the proper development of the acetic germs which convert it into acetic acid in the manufacture of vinegar. This association is required to incite satisfactory fermentative results which we have learned to look upon as constant if suitable conditions are observed. By the work of Nencki<sup>2)</sup> with the bacillus of symptomatic anthrax and *Micrococcus acidi paralactici* was demonstrated that by combination or association in culture, changes were wrought which could not be accounted for by the cultivation of either germ under isolated conditions and which could be measured by the formation of butyl alcohol over the products of each in separate culture. Burri and Stutzer<sup>3)</sup> have shown that the colon micro-organism exerts a favorable action in the process of denitrification, causing the liberation of an abundance of free nitrogen from sodium nitrate when cultivated with *Bacterium denitrificans* I, but when each is cultivated in pure culture by itself, neither the colon nor *denitrificans* I is able to set free nitrogen as indicated in combination. The formation of nitrates from nitrites, and nitrites from ammonium salts through the coöperation of nitroso- and nitro-bacteria, following upon the degradation of nitrogenous organic matter by other classes of bacteria, confirms this interdependence of bacterial action, one species upon the other, and establishes the biological agent as causative and progressive, energetic and eminently capable of instituting many inter- and intra-molecular changes in nature. In the decomposition of meat there appears not a single biological factor, but several seem necessary to the destruction which passes from complex combinations of atoms through a series of steps to simple combinations. It is generally accepted that many of the pathogens frequently become more forceful<sup>4)</sup> in the production of their definite

1) Pasteur, L., *Etudes sur le vinaigre*. 1868.

2) Nencki, M. von und Sieber, N., *Ueber die Bildung der Paramilchsäure durch Gärung des Zuckers*. (Sitzungsberichte d. kaiserl. Akad. d. Wissenschaften in Wien. math.-naturw. Kl. 1889. Mai. — *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. VII.* 1890. No. 4. p. 130; *Bd. XI.* 1892. N. 8. p. 225, *Ueber Mischkulturen*).

3) Burri, R. und Stutzer, A., *Ueber einen interessanten Fall einer Mischkultur*. (*Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XVI.* No. 20. p. 814.)

4) Vaillard et Rouget, *Annales de l'Institut Pasteur*. T. VI. N. 6; *Hyg. Rundschau*. Jg. 1893. p. 80. — Novy, *Zeitschr. f. Hyg. u. Inf.* Bd. XVII. Heft 2. — Funk, *Zeitschr. f. Hyg. u. Inf.* Bd. XVII. Heft 3. — Ehrlich, *Charité-Annalen*. Jg. VII. p. 223. — Roux et Yersin, *Annales de l'Institut Pasteur*. T. IV. 1890. No. 7. — Schreider, *Centralbl. f. Bakt. Bd. XII.* 1893. No. 9. p. 289. — Barbier, *Archive de méd. experim.* 1891.

pathologic changes through the instrumentality of some non-pathogen, or some other pathogen; in other words, a mixed infection may give rise to a more drastic type of disease; that is, association of two species may greatly intensify the power of one to cause abnormal processes. So important and so practical is this that secondary infections are carefully guarded against, lest primary abnormalities become aggravated. In milk the kephir<sup>1)</sup> granule has long been known as a combination of biological elements. Attempts to ascertain specific isolated individual action have been more or less futile. The koumiss<sup>2)</sup> starter is not confined to the functional capacity of a single micro-organism, but reaches into associative growth. Ginger-beer<sup>2)</sup> is also recognized as the product of dual capacities, and believed the result of more than a single micro-organism. The antagonistic or associative influence of lactic bacteria over other bacteria is well known, but so far as the writer is cognizant, nothing has been done to demonstrate the favoring influence of some bacteria over the lactic germ. From this curtailed review, such relationship may be considered not as an impossibility; it has been our aim throughout these investigations to positively demonstrate this association and relationship and in this we have not been disappointed; also, we hope to further indicate several dependent, accompanying, and controlling circumstances.

#### I. b) Comments.

Bacteriological workers with lactic bacteria have often met with inconsistencies in their lactic cultures which would not yield to satisfactory explanations and perhaps have felt many times that all factors and circumstances had not been brought to light. Lactic micro-organisms in pure cultures do not always behave the same, and they do not even when introduced into unsterilized milk. Whether the recognized irregularities may be attributable wholly to association the future must determine, but there will be manifest in these investigations other elements which should enter at least for consideration and may eventually become known influencing factors. Because of this possibility, considerable discussion and many data will follow, treating of some of the many forces at work.

Lactic micro-organisms grow slowly and irregularly in milk during the early stages of a culture and vary in cultures in which different milks have been employed. Whether this is due to the small number striving for a foot-hold, or whether it is due to some inhibitive property of the milk, may be guessed partly from what is known of the germicidal action of fresh milk, of the enhanced value of partly digested milk for the cultivation of these germs, and of the great variability of milks in their response to bacteria. So pronounced are these factors at times that one is led to suspect that the nitrogen of milk may not be in the most suitable form for germ feeding, or the constituents of milk are not favorable to rapid development of germ life, or, perhaps, anti-bodies are present. These facts are established, however, as shall be seen later: all digestions are not able to furnish the products needed, for it will be found that a large percentage of milk peptonizing germs will prove

1) Nencki, F. und Fabian, A., *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. II.* 1887. No. 18. p. 523.

2) Ward, Marshall, *Phil. Trans. Roy. Soc. B.* 1892. p. 125.

worthless in fostering the souring of milk by favorably influencing lactic germs, on the other hand it is safe to anticipate a considerable influence exerted by the products of digestion upon the growth of lactic germs (a theme which will receive especial attention) and upon the wholesomeness of milk (a subject we shall not discuss much in this paper) since the products are stable and will withstand heating; moreover, pasteurization and sterilization would not necessarily check in any way the action of these products if they are capable of inducing gastro-intestinal disturbances; the inhibitive or germicidal action of fresh milk is now fairly understood so far as its effects are seen, and while of no great practical meaning, it cannot be disregarded in these investigations; the marked influence different milks have upon the growth of germs is largely a matter of future determinations, still there is sufficient evidence offered in this article to regard it as a very important factor which is involved in nearly all milk studies.

### I. c) Review of previous personal work.

A cursory review of our own work which has already been published will be necessary to a comprehensive understanding of the entire field and the establishment of an existing continuity in the investigations.

It has been shown that germ B in association with germ A hastens the souring of milk over that produced by germ A in pure culture. This may be easily illustrated:

a) By the naked eye appearance of the milk cultures in which loppering occurred about ninety-six hours earlier in the combined culture A + B<sup>1)</sup> than in a pure culture of germ A. In litmus milk the changes in the litmus may be followed more easily than the curding, for the formation of acid is far more rapid in culture A + B, accordingly the litmus notes its production and progress.

b) By studying the acidity of cultures A and A + B comparatively.

	Culture A	Culture A + B
0 hrs. after inoculation	18°	18°
24 " " "	18	20
44 " " "	28	64 loppered
68 " " "	40	74
92 " " "	48	84
116 " " "	52 loppering	93
142 " " "	56	108

This single test corresponds very favorably with the usual results obtained and is very representative. Milk for both cultures should be made from the same lot.

c) By a comparative determination of the number of lactic bacteria in culture A and in culture A + B, at the time of the loppering of A + B and when germ B has completely disappeared. The ratio may be expressed as follows:

$$A : A + B = 27 : 1614$$

It has been also possible to demonstrate that germ B produces stable products which withstand sterilization and exert the same influence over germ A in milk cultures as the living germs themselves. Again this may be shown in a very similar manner as employed in the previous series:

1) Culture A + B represents a mixed culture in which are found germs A and B in equal amounts of twenty-four bouillon culture of each.

a) <sup>1)</sup> By observing the milk cultures made from the same lot of milk and nothing that culture (A + the products of B) loppers the milk as many as seventy-two hours earlier than culture A. With litmus milk it is possible to follow out the progress by the changes taking place in the litmus from the formation of acid.

b) By a comparative study of acidity of culture A and culture (A + the products of B).

Flask-cultures		0 hrs. old	24 hrs. old	46 hrs. old	72 hrs. old	96 hrs. old
Same lot of milk	1	22°	30°	48°	62°	66°
	2	22	30	46	60	66
	3	22	30	48	62	64
	4	22	30	48	62	66
	5	26	72	108	112	112
	6	26	72	106	112	110
	7	26	70	108	112	110
	8	26	70	108	110	110

c) By a comparative estimate of the number of germs in culture A and in culture (A + the products of germ B). The ratio may be expressed in the following manner:

$$A : (A + \text{products of germ B}) = 27 : 1007$$

Even at the present time there is no reason for altering these figures or results in the slightest degree. Repetition over the past year only confirms the conclusions reached in our previous article. However, in our work at that time there were evident some peculiarities which could not be satisfactorily explained; in the previous work, irregular results were obtained usually from the employment of different lots of milk in conducting a single test. For the time being this matter was allowed to rest and in the tests the same lot of milk was used and treated in precisely the same way.

## II.

The significance of different milks and the relation of variability to germ development.

Since it was so plainly indicated in the work with the products manufactured by germ B in milk after a few hours growth that the lactic germs responded favorably to their influence, it was suspected that ordinary milks contained germ products in greater or less quantities, some favorably influencing the growth of the lactic germs, others being indifferent, and still others antagonizing. These were considered a probable cause for the irregular results secured from somewhat varying or different milks. These products could be regarded as cleavage products resulting from the action of the germs upon the constituents of the milk, secretions of the germs, or a possible dissolution of the milk which is known to be very unstable, irrespective of germ life. Again, there was the possibility of finding that milks from different cows would respond differently to the influence of the same germ, even when sterilized within one hour after drawing. To arrive at some definite knowledge concerning these points, the writer began by testing milks as secured from the dairy and employed in the laboratory.

In testing milk, as it is obtained from the dairy, for cultural

1) The products were secured by sterilizing forty-eight hour cultures. See 2d article.

purposes, it has been noted in this laboratory that when subjected to heating at

20° it sometimes loppers and sometimes does not,  
 21° " " " " " " "  
 22° " " " " " " "

Of course, 22° milk is far more likely to lopper than 20° milk, but in this instance it is not the customary action which should be considered, but the unc customary, for it is the deviation from normal conditions sought.

Bacteriologists have been aware of discrepancies occurring in milk culture work for some time, and have been somewhat at a loss to discover the cause for this. The behavior of certain species in milk could not always be confirmed, and error is the usual charge in a case of failure in confirmation. When irregularities do occur or are found, it were better to look for the specific reasons than to turn it off as unfathomable and personal. The author does not wish to express or draw any positive conclusions from his work on the variations of milk, but finds it essential to his studies with association; accordingly, he is compelled to give the results of experiments conducted up to this time.

Three lots of milk were secured from the dairy at different times and were labeled as fresh, fresh dairy, and old dairy milk. The fresh was obtained from the stable, separated and sterilized within one hour after coming from the cow. The fresh dairy milk had been skimmed in the dairy and is what would be regarded as ordinary sweet dairy milk. The old dairy milk had been skimmed and stood in the dairy some time and had taken an upward start in acidity. These different lots were flaked, using an equal amount for each flask, and sterilized by the discontinuous method. After sterilization, into each flask was placed one c. cm. of a 1:1000000 dilution of a bouillon culture of germ B. These high dilutions of cultures have been found throughout our work as necessary to satisfactory measurement. When these milk cultures had stood for a time, a portion was tested by heating to determine whether it would curd or not, and at what point of time such curding would take place with the different lots of milk. This was instigated by the experience with germ B which was learned to produce curding in some milks in the cold, but always by heating, at some stage. The following table will give the results:

Original milk designated as	Original acidity	Temperature maintained C.	Time of lopping by heating	Acidity at time of lopping
Fresh (stable)	19°	21°	50 hrs.	19°
(dairy)	20°	21°	47 "	20°
Old (dairy)	21°	21°	42 "	21°

Two explanations for these differences are possible; the one, that germ B produces a certain amount of acid which in addition to that already present is sufficient to lopper the milk, earlier in the more acid milk when subject to heat, and later in the less acid; the other, there is formed an enzyme or products which in the presence of the acid of the more acid milk, manifests itself sooner when heat is applied. We assume in this case that the enzyme acts before sufficient heat has been applied to destroy it. Some space will be given later to the discussion of the

possibility of an increased acidity in the development of germ B; consequently, it is unnecessary to enter into the question at this point other than to say that evidence in its favor appears meager. A very old culture of germ B, strongly alkaline, will throw down an abundant precipitate upon heating, and in most milks, cultures of germ B have to be well under way before curding will take place by the application of heat. If there is any question of increased acidity, it must be considered during the very early hours of the culture, for soon the alkalinity increases. The formation of a lab enzyme in sufficient quantities after several hours to curdle the milk seems more probable, yet even this explanation is by no means final, for this hypothesis and the facts do not coincide as fully as they ought. The cultures in milk show considerable advancement in digestion before lopping takes place. It is true that lab enzymes not infrequently form in the presence of peptic digestion, but are unable to manifest themselves on account of the rapid dissolution of the milk. To this it may be said that in some milk cultures curding takes place slightly but perceptibly before much digestion has taken place, while in other milks there is no evidence of curding. In the heating of the cultures, too, the rapid rise of temperature would possibly destroy the enzyme. Of course there is a chance of enzymic action before the temperature becomes too high, yet so far as we can determine, the precipitation does not occur with the warming, but rather with the prolonged heating. To further elucidate this matter in hand, boiled sweet milk can be made to curdle in much the same manner as the flask cultures by the addition of some of a digested milk culture of B of long standing, which has been boiled and filtered. This simple test confirms what has been suspected: the products, stable and not enzymic in nature, are able to produce a precipitation. This has been demonstrated with cultures neutral in reaction to litmus and also decidedly alkaline to the same indicator. Neither acids nor enzymes but products of another nature apparently cause the curding upon heating. Perhaps we may later be able to show that different milks respond differently to the development of germ life because such products are formed more easily in some milks than others. The differences, therefore, manifested in the above table may be said to be due to the differences in the amount of products manufactured by germ B in the different lots of milk, and further, the measure of the products would also measure the germ development which seemingly has some relation to the character or condition of the milk in which they are grown.

Another effort to ascertain the variability of different milks, employing germ A, will add to the evidence. In this instance, the time of curding and the measured acidity will serve as the key to the situation.

Lot of milk (dairy milk)	1	2	3	4	5
Original acidity	15°	14°	16°	16°	14°
No. of germs introduced per ccm	692	692	692	692	692
Time of testing acidity of culture	120 hrs.	120 hrs.	120 hrs.	120 hrs.	120 hrs.
Acidity of culture	34°	23°	24°	37°	27°
Time of natural curding	148 hrs.	384 hrs.	264 hrs.	148 hrs.	275 hrs.
Temperature maintained C	20°	20°	20°	20°	20°

The lots of milk employed in this test were secured from the dairy on different days, were inoculated with the same number of germs,



were manipulated in the same manner, were maintained at the same temperature, and all the conditions were identical with the exception of the different lots of milk. The results, as indicated by the time of curding and the degree of acidity, are indeed irregular. In the employment of the same lot of milk, constancy and uniformity are very striking whenever the manipulative processes have been carefully executed. When beginning this work on association, this irregularity growing out of the employment of different lots of milk caused much confusion; fortune favored by requiring the same lot of milk in each test as well as absolute uniformity in sterilizing and all other operations in its preparation. It is absolutely necessary to observe accuracy and uniform manipulation, otherwise the operator is likely to fail in associative studies. This may be illustrated by the use of a single lot of milk subjected to uniform treatment for studying cultural results.

Lot (dairy milk)	1	2	3	4
No. of germs introduced per ccm	249	249	249	249
Time of testing acidity	72 hrs.	72 hrs.	72 hrs.	72 hrs.
Acidity	62°	60°	62°	62°
Time of curding	55 hrs.	55 hrs.	55 hrs.	55 hrs.
Temperature maintained	23°	23°	23°	23°
Count of germs per $\frac{1}{1,000,000}$ ccm	112	113	111	112

The flask cultures moved along together in their development without any appreciable difference in appearance. They were as one flask.

Comparing such uniform results as obtained in the table just outlined with what has gone before and with what will follow as additional evidence, it follows that care must be exercised if constant interpretations are sought, and if dependence is to be placed upon milk cultural work from the bacteriological standpoint. Generally mixed milks are employed and these are more likely to be uniform than milk from individual cows.

Richmond<sup>1)</sup> gives a table of analyses of milk from different breeds:

Breed	Total solids	Fat	Milk sugar	Proteids	Ash
Ayrshire	12,70	3,68	4,84	3,48	0,69
Guernsey	14,48	5,02	4,80	3,92	0,75
Holstein	12,12	3,51	4,69	3,28	0,64
Jersey	14,34	4,78	4,85	3,96	0,75
Shorthorn	12,45	3,65	4,80	3,27	0,73

He also illustrates the variation in milk from the same cow in another table<sup>2)</sup>:

	p. m. 9./6. 87 per ct.	p. m. 10./6. 87 per ct.	p. m. 11./7. 87 per ct.	a. m. 12./7. 87 per ct.	p. m. 13./7. 87 per ct.	a. m. 14./7. 87. per ct.	p. m. 11. 11. 88 per ct.	a. m. 12./11. 88 per ct.
Total solids	14,0	12,8	14,3	16,7	11,0	14,8	15,1	12,1
Fat	4,9	3,8	9,4	10,5	4,9	8,2	6,3	3,2
Milk sugar					1,91	3,26		
Proteids					3,35	3,32		
Ash			0,78	0,76	0,86	0,76		
Solids not fat	9,1	9,0	4,9	6,2	6,1	6,6	8,8	8,9

1) Richmond's Dairy Chemistry. p. 125.

2) Richmond's Dairy Chemistry. p. 124.

Little attention is usually paid to the acidity of milk<sup>1)</sup>, although it has long been known that it is subject to great variation, because of its more or less indefiniteness; but in our bacteriological work it is possible that it plays an important rôle as possessing functions of its own or standing for a measurement of milk constituents, consequently some tests of our own determination are added to illustrate recorded knowledge which is not usually free of access.

	22. 5.	23. 5.
Red Polled (Pansy Belle)	9°	—
Grade 31	18	16°
Holstein (College Houwtje)	5	11
Swiss (College Becky)	13	15
Holstein (College Belle)	14	6
Grade 11	17	18
Grade 17	18	
Grade 32		19
Holstein (College Houwtje Mae)		14

From these tables it is safe to draw the conclusion that milk from different animals varies widely, as also does milk from the same animal.

Some notion may be gained from the mixing of milk which, too, is subject to marked variation, but within more limited ranges. Richmond gives a table on page 127 (loc. cit.) in which he states a mean monthly average of milk for the past sixteen years. This does not illustrate accurately the composition of mixed milk, but rather the greatest possible uniformity.

Month	Spec. grav.	Total solids	Fat	Solids not fat
January	1,0322	12,88	4,02	8,86
February	1,0322	12,78	3,93	8,85
March	1,0322	12,71	3,88	8,83
April	1,0322	12,66	3,84	8,82
May	1,0323	12,66	3,82	8,84
June	1,0322	12,59	3,79	8,80
July	1,0317	12,66	3,93	8,73
August	1,0316	12,73	4,02	8,71
September	1,0319	12,92	4,12	8,80
October	1,0322	13,13	4,21	8,92
November	1,0322	13,19	4,30	8,89
December	1,0322	13,04	4,16	8,88

1) See the work of P. Dornic, *Revue générale du lait*, Année I. No. 10. p. 217.

Note: Milk is alkaline or amphoteric to litmus and acid to phenol-phthalein. Hoppe-Seyler-Thierfelder, *Physiologisch- und pathologisch-chemische Analyse*. 1903. p. 537.

"Milk has always, when fresh, an amphoteric reaction: i. e., it turns blue litmus paper slightly red and turmeric paper slightly brown. A similar reaction is possessed by certain phosphate solutions, and it is probably to the presence of such in milk that this reaction is due. Much has been written on this subject, but it is a point which more properly belongs to the chemistry of litmus and turmeric than to the chemistry of milk. This reaction has acquired a false importance owing to the erroneous idea that neutrality as measured by the action of litmus is chemical neutrality; with the recognition of the fallacy of this idea, the importance of the amphoteric reaction vanishes". (Richmond, *Dairy Chemistry*. 1899. p. 8.)

Storch, K., *Tierärztliches Centralblatt*. Wien. Bd. XXXII. 1904, also *Revue générale du lait*. Année IV. No. 6, says that the chemical reaction of milk is independent of food and that it is produced by the presence of acid and neutral phosphates which do not neutralize each other. Only when the acids of fermentation are produced, the neutral salts are transformed into acid salts and the reaction of the milk becomes acid. The milk is amphoteric when the reaction of the acid and neutral salts is satisfactory, otherwise it is alkaline or acid.

Mixed milk as we get it from the dairy usually is confined to a range of 14—20° acid with phenol-phthalein as indicator, and may most commonly be found about 18° acidity. This is the general understanding among dairymen, hygienists, and physiologists, and is not contrary to accepted belief. However, it has not been sufficiently considered from the standpoint of the bacteriologist in its relation to his work.

It is now our purpose to add further confirmation and interesting bacteriological data to what has already been given. An instance of a mixed culture of germs A + B will contribute to the same line of thought.

Milk lot (dairy milk)	1	2	3	4	5
Original acidity	19°	18°	12°	17°	13°
No. of germs introduced per ccm					
Germ A	766	766	766	766	766
Germ B	1520	1520	1520	1520	1520
Time of testing acidity	96 hrs.	96 hrs.	96 hrs.	96 hrs.	96 hrs.
Acidity	33°	23°	57°	57°	62°
Time of curding	130 hrs.	336 hrs.	96 hrs.	144 hrs.	96 hrs.
Temperature maintained C	20°	20°	20°	20°	20°

Irregular results are not very noticeable in this table, but there appears to be a discrepancy between the acidity and the time of curding. This discrepancy will probably be found one of the features of milk variation either due to the composition of the milk or products arising from germ activity or perhaps katalytic processes.

Several tables which will now follow vary somewhat in the milk employed and the germ planted.

#### Germ A used for all.

Milk lot (dairy milk)	1	2	3	4	5	6
Original acidity	15°	14°	16°	15°	16°	14°
No. of germs introduced per ccm	35	35	35	35	35	35
Time of testing acidity	72 hrs.	72 hrs.	72 hrs.	72 hrs.	72 hrs.	72 hrs.
Acidity	29°	27°	40°	43°	31°	34°
Time of curding	165 hrs.	160 hrs.	145 hrs.	140 hrs.	165 hrs.	160 hrs.
Temperature maintained C.	20°	20°	20°	20°	20°	20°
Count per $\frac{1}{1000000}$ ccm	20	24	25	25	20	22

#### Germ employed — Germ B.

Milk lot (dairy milk)	1	2	3	4	5	6
Original acidity	15°	14°	16°	15°	16°	14°
No. of germs introduced per ccm	85	85	85	85	85	85
Time of testing acidity	90 hrs.	90 hrs.	90 hrs.	90 hrs.	90 hrs.	90 hrs.
Acidity	19°	19°	19°	18°	17°	17°
Temperature maintained C.	20°	20°	20°	20°	20°	20°
Colonies per $\frac{1}{1000000}$ ccm milk culture	—	150	1	100	75	—

In the next table is given a test in which the milk employed had been sterilized within an hour after coming from the cow.

Two lots run at different times. Germ used — Germ A.

Milk lot (fresh from cow)	Holstein 1	Swiss 2	Holstein 1	Swiss 2
Original acidity	14°	12°	13°	10°
No. of germs introduced per ccm	235	235	130	130
Time of testing acidity	72 hrs.	72 hrs.	80 hrs.	80 hrs.
Acidity. Two flasks	$\left\{ \begin{array}{l} 44^{\circ} \\ 44^{\circ} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 40^{\circ} \\ 40^{\circ} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 41^{\circ} \\ 40^{\circ} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 36^{\circ} \\ 35^{\circ} \end{array} \right.$
Temperature maintained C	20°	20°	20°	20°

In this table irregularities may be traced to individual cows.

If any conclusion is to be drawn from the evidence presented, and we must be very cautious in drawing a conclusion of any kind, it may be found in the well known fact that milk from different cows and from the same cow at different times varies widely, and that this variation is capable of making itself manifest upon the development of micro-organisms, sometimes favoring, sometimes retarding, but at all times of sufficient importance to bear in mind when milk is used for cultural purposes.

My work extends sufficiently far to say that litmus added to milk causes irregularities in cultures, not among the litmus milk cultures themselves, but when compared with the same lot of milk, as plain milk cultures. This has been very noticeable in our work, but as yet the work is too limited for prolonged discussion with contributing experimental facts. This subject of milk variation is not as well defined or as satisfactory as one would wish, but it has entered so largely into the work with association that to leave it out would fail of proper inference, and confirmation would become more difficult.

While we are compelled to admit that milk is subject to great variability traceable to the cow herself, yet we should not lose sight of the probability of products forming in milk as secondary products of germ action, giving rise to favorable or unfavorable influence upon primary fermentation as illustrated in our associative studies. It may be that these products at times are stable and toxic, and existing in sufficient quantities to produce gastro-intestinal disturbances. While the variation in the first instance may be regarded as physiological and normal, in the second instance it may be regarded as bacterial and abnormal.

It has long been known that rennet in the making of cheese acts more readily upon milk which has ripened for some time than upon wholly fresh milk. So commonly recognized is this that cheese makers employ more rennet in the curding of sweet milk than where a certain amount of acid has developed. Mr. H. C. Oven, working in this laboratory with the action of pepsin and rennet on milk, has contributed some data which confirms the chemical and bacteriological experiences given in the foregoing paragraphs.

Pepsin that is employed for cheese making.

Breed of cow	9:30 a. m.	10:45 a. m.	3:00 p. m.
Ayrshire	10½ min.	13½ min.	12¼ min.
Brown Swiss	4 "	5 "	4½ "
Holstein I	39½ "	54 "	No curding in 1½ hour
" II	No curding in 1 hour	No curding in 1 hour	No curding in 1 hour

The times in minutes represents the time required for curding. No curding in a definite time means that it was allowed to stand for the time stated without effect and observation was discontinued. The amount of pepsin employed was at the rate of 20 g to 1000 lbs. of milk. The temperature maintained was 30° C.

Another test was made with rennet, such as is employed commonly by cheese makers throughout the state.

Breed of cow	Rennet.			
	Time of testing			
	9:00 a. m.	10:00 a. m.	11:00 a. m.	2:00 p. m.
Grade 1	14 $\frac{1}{4}$ min.	20 $\frac{1}{2}$ min.	29 $\frac{1}{2}$ min.	17 $\frac{1}{2}$ min.
" 2	19 $\frac{3}{4}$ "	38 $\frac{1}{2}$ "	40 $\frac{3}{4}$ "	23 $\frac{3}{4}$ "
" 3	13 $\frac{1}{2}$ "	21 "	31 $\frac{1}{4}$ "	19 "
" 4	12 $\frac{1}{2}$ "	23 "	34 $\frac{3}{4}$ "	20 $\frac{1}{2}$ "

The time throughout the table is indicated in minutes. The amount of rennet used was at the rate of 4 oz. per 1000 lbs. of milk. The temperature maintained was 30° C.

Here<sup>1)</sup> again, by the use of enzymes, it is possible to show a marked difference in the response of milk from different cows. It has been our experience throughout that the grade animals give a more uniform milk and that the Holstein shows the lowest acidity, and is slowest to respond to rennet. The Holstein produces the lowest amount of solids, also. It would necessitate far more extensive tests to make the differences manifested by breeds of tenable significance for each breed. We mention this possibility without drawing conclusions so far as breeds are concerned. Our primary purpose is to establish the value of different milks or perhaps the inconstancy of milks in their relation to bacteriological conclusions. Chemically, this irregularity is recognized, but in bacteriology it has been disregarded too much.

### III. The changes produced in milk by germ B.

It has been demonstrated fully that some product or products manufactured by germ B, while growing in milk are responsible for the favorable influence upon germ A; it has also been shown that these products are thoroughly stable when subjected to discontinuous sterilization, and, further, when these products after complete sterilization are added to sweet milk, curding may be produced.

To determine what these products are is a difficult task, and we are still in the dark concerning them, yet by studying this subject from the synthetic and analytic standpoints, a little knowledge, at least, is gained.

Suspecting that through the rapid digestion of milk by germ B there might be digestion products corresponding to other products already known upon the market, an effort was made to furnish such a product by simple addition to milk, bouillon, and agar. These preparations used did not prove a success and none even approach an agar, made from the actual products of germ B, placed in milk for the cultivation of germ A. Improvement in the growth of germ A was obtained by the addition of certain substances, it is true, but all fell so far short

1) The action of rennet may be dependent upon the acidity of the milk, the acidity upon the dibasic and neutral phosphates and perhaps citrates present, consequently rennet action returns to the mineral constituents of milk, one of which probably figuring more largely than there is lime.

of what really occurs in the presence of germ B or its products that little attention was given them.

The changes produced by germ B, visible to the naked eye, may be noted from time to time. At first there is a yellowish, watery layer seen upon the surface of the milk, a complete digestion of the casein. This process continues downward until the entire milk is practically peptonized. The proteolytic capacity of the germ is marked by rapid progress under the most favorable conditions. As the culture ages the pigment changes to orange yellow and the consistency of milk is slimy. The culture is turbid and alkaline. The odor, which is very strong, is perceptible as soon as the germ starts. At first it is cheesy, passing to pine-apple, and then, in old cultures, to a putrid character. These visible changes in culture and the pronounced change in odor would indicate a continuous change in products during the process of degradation of the proteid substances of milk.

To arrive at a suggestive knowledge of the changes wrought by germ B in milk, analyses of cultures at different ages were undertaken after the usual methods. It is of course understood that while our knowledge of the protein constituents of milk and their degradation is so incomplete and also of the methods employed for estimation so unsatisfactory, the results secured should be regarded as indicative rather than absolute.

## I.

Percentage of nitrogen.		Percentage of nitrogen.
Control flask sterile		Culture flask germ B, 48 hrs. old
0,5474	Total nitrogen	0,525
0,4536	Casein	0,2912
0,0224	Albumin	0,0182
0,0252	Caseoses, peptones, etc.	0,0874
0,0238	Amido compounds	0,0932
0,0224	Ammonia	0,035

## II.

Control flask sterile		Culture six wks. old
0,4598	Total nitrogen	0,4638
0,3766	Casein	0,0434
0,0252	Albumin	0,0000
0,021	Caseoses, peptones, etc.	0,0340
0,021	Amido compounds	0,2107
0,016	Ammonia	0,1757

These analyses assist in understanding what is going on during the development of a culture of germ B in milk, and they also tell us that perhaps the hydrolised products, amido bodies, or ammonia compounds may be the cause of the hastened growth of the lactic germs. The fact that early in the development of germ B, the lactic germs are stimulated, may mean that the caseoses are more instrumental than the others; still from the beginning amido and ammonia compounds are apparently produced in traces. It is impossible to draw any definite conclusion from these analyses; only in a most general way do they help to associate lactic development and proteolysis in this specific case. In some other instances proteolysis does not seem to be able to accomplish this favorable action on lactic germs.

## IV.

The possibility of acid production in milk during the early stages of development of germ B.

This is a very important question to raise in connection with the

associative results of germ A and B, as it may be suspected at once that a small amount of acid produced by germ B added to the acid known to be produced by germ A may account for the associative result, and also a very slight increase of acidity may hasten the work of any lab enzyme which may be present. In the latter case the acidity of the mixed culture must be regarded as apparent and not real, and the increase indicated would have to be accounted for by the action of germ B on the indicator which may be regarded as a feasible explanation.

As cultures of germ B age, they become more and more alkaline. This cannot be gainsaid for it is very apparent by the use of litmus as an indicator. With phenol-phthalein as indicator, an increased acidity would be noted, but this is probably due to the destructive action of the germs upon this indicator. When germ B is grown in litmus milk the blue of the litmus changes to a dirty, reddish blue, then it completely disappears, but after the greatest activity of the germs subsides, distinctly blue patches reappear upon the immediate surface of a flask culture. It can be seen from this that if the changing of blue litmus to a reddish blue and the apparent increase of acidity by means of phenol-phthalein is in reality due to acid formation, then the matter is settled at once; but the litmus becomes more decidedly blue as the culture in milk ages, if added in sufficient quantity at the time of testing; and the phenol-phthalein indicator, when this strong alkalinity is so pronounced with added litmus, marks a higher acidity. There is this, too; litmus or phenol-phthalein allowed to stand in the old culture a very short time is destroyed and will manifest no response. Other indicators employed give no better results. What then may be concluded under such circumstances? It is our purpose to bring together a few observations to enable us to form a satisfactory understanding.

In order to obviate the difficulties experienced in the use of milk culture for the determination of acid formation and to furnish a clear, transparent medium, saccharine bouillon cultures were utilized to study reaction changes. Bouillon of the same lot was divided into several portions, to each of which was added one of the following sugars: saccharose, dextrose, lactose, levulose. Inoculation of each was made at the same time with the same number of germs. A soluble starch bouillon was also added to the list. So far as could be observed, the reaction began to change in the direction indicated in the table until the tenth day, when the results were recorded.

	Check acidity	Acidity of culture after ten days
Saccharose bouillon	15°	6°
Dextrose        „	15°	10°
Lactose         „	15°	8°
Levulose        „	15°	14°
Starch          „	15°	15°

In starch there is evidently no reduction in acidity but in the other cases, with the exception of levulose, it is quite apparent. The starch had undergone change into dextrins<sup>1)</sup> but had not produced any reducing sugars<sup>2)</sup>. There was no gas formation in any of the cultures. These facts help to confirm the view that no acid is formed at any time during the development of the culture. In the chemical analyses

1) Iodine was used as ordinarily for this determination.

2) Fehling's solution was employed.

of cultures of germ B there is every evidence to believe that no formation of acid occurs because of the constantly increasing amounts of amido and ammonia compounds occurring right on the start. The forty-eight-hour culture, showing reddish blue litmus, is represented in our analyses, and these results would assist greatly in clearing this field. It is also significant to note the character of the germs which besides germ B are capable of yielding about the same influence upon the lactic germ A. By summing up, the entire field is presented in a few words:

- 1) Litmus during the first few hours is changed to a muddy, reddish blue, then completely reduced.
- 2) Phenol-phthalein is in some manner affected by the products of germ B in milk culture, and partly destroyed.
- 3) Other indicators tested have no higher value in this work than litmus and phenol-phthalein.
- 4) Old milk cultures of germ B are decidedly alkaline.
- 5) In saccharine bouillon cultures there is an increased alkalinity, with the exception of levulose.
- 6) Starch is changed to dextrans, but no reducing sugar is formed. Reaction is not altered.
- 7) In milk-cultures by analysis, increasing amounts of amido and ammonia compounds are produced.
- 8) Other known germs of the same character are capable of causing practically the same action, varying in degree of intensity, and no acid constituent has been recognized among the products of most of there.
- 9) The curding effect this germ sometimes possesses has now been traced to its products, which are decidedly alkaline, especially in old cultures. This was the strongest argument for a long time in favor of acid production, but is not tenable after showing the products will curd milk.

The author has felt constrained to present the matter of acid formation very fully because, unless the reader has it clearly in mind, there is a possibility of being misled. The one strong factor which would not allow the author to reach a very definite conclusion in regard to all milks early in these investigations was the occasional curding of milk by germ B before complete peptonization. After demonstrating that the products apart from acids or enzymes could do this, no further trouble existed in believing that there is no acid formation on the start followed by alkali production, but that the alkaline reaction increases steadily from the beginning and continues for some time.

## V.

The extent of associative action in the souring of the milk or the influence of other germs than germ B upon germ A.

This phase of the subject might be carried on indefinitely, if worked out in detail. The writer has been so fully occupied with germs A and B that he has not been able to get far beyond, still he has made an attempt to extend the studies to other associations, in all of which germ A figures as the lactic germ, but some other micro-organism has been substituted for germ B. Mr. F. B. Howard has assisted with germs 12100 and *Proteus vulgaris*.



	Germ 12100 and germ A.	
Culture	A	12100 + A
Age of culture	72 hours	72 hours
Temperature maintained	23° C	23° C
Acidity	65°	80°
Character of culture	smooth, thick lopper	loppered and whey separated
Count of micro-organism	704,000,000 per ccm	916,000,000 per ccm

	Proteus vulgaris and germ A.	
Culture	A	Proteus + A
Age of culture	48 hours	48 hours
Temperature	22° C	22° C
Acidity	44°	59°
Character of culture	curd soft—no separation of whey	hard curd—whey separated
Count of micro-organism	540,000,000	1,000,000,000

	Mycoides and germ A.	
Micro-organism	Mycoides	Mycoides + A
Acidity	20°	62°
Time	48 hours	48 hours
Temperature	21°	21°

	Prodigiousus and germ A.	
Micro-organism	Prodigiousus	Prodigiousus + A
Acidity	25°	40°
Time	48 hours	48 hours
Temperature	21°	21°

	Germ 999 and germ A.	
Culture	999	999 + A
Age of cultures	24 hours	24 hours
Temperature maintained	23° C	23°
Acidity	30°	92°
Time	48 hours	48 hours
Character of culture	litmus blue; no lopper	litmus pink; loppered

	Germ X and germ A.	
Culture	X	X + A
Temperature maintained	23°	23°
Acidity	42°	62°
Time	72 hours	72 hours
Character of culture	litmus reduced; partly loppered	litmus reduced; loppered

	Germ 1077 and germ A.	
Culture	1077	1077 + A
Temperature maintained	23°	23°
Acidity	20°	60°
Time	72 hours	72 hours
Character	litmus blue; no lopper	litmus reduced; loppered

	Germ 1055 and germ A.	
Culture	1055	1055 + A
Temperature maintained	23°	23°
Acidity	40°	64°
Time	96 hours	96 hours
Character	litmus blue; unchanged	litmus pink; soft lopper

	Germ 1028 and germ A.	
Culture	1028	1028 + A
Temperature maintained	23°	23°
Acidity	13°	67°
Time	120 hours	120 hours
Character	litmus blue; unchanged	litmus reduced; soft lopper not so thick as A

	Germ 1016 and germ A.		
Culture	1016	1016 + A	A
Temperature maintained	23°	23°	23°
Acidity	13°	65°	66°
Time	120 hours	120 hours	120 hours
Character	litmus blue; unchanged	litmus reduced; lopper not so advanced as A	litmus pink; soft lopper

## VI.

How the influence of germ B upon germ A may be demonstrated in butter.

Mr. W. R. Wright carried on some experiments in which he attempted to demonstrate the influence of germ B in the making of butter and its possible control by the use of germ A.

Cream lot	Division of lot	Amt. of B added	Amt. of A added	Condition of butter
I	1	5 %	2—1/2 %	very strong of B
	2	5 "	5 "	" " "
II	1	—	5 "	tainted
	2	5 "	5 "	very strong of B
III	1	—	8 "	very good
	2	5 "	8 "	quite strong of B
IV	1	—	15 "	very good
	2	5 "	15 "	B easily detected
V	1	—	20 "	excellent
	2	5 "	20 "	B easily detected
VI	1	—	25 "	excellent
	2	5 "	25 "	strong; B easily detected
VII	1	—	30 "	excellent
	2	5 "	30 "	B easily detected
VIII	1	—	35 "	excellent
	2	5 "	35 "	B easily detected
IX	1	—	40 "	excellent
	2	5 "	40 "	B easily detected
X	1	—	40 "	excellent
	2	5 "	40 "	B easily detected
XI	1	—	40 "	excellent
	2	5 "	40 "	B easily detected
XII	1	—	45 "	excellent
	2	5 "	45 "	B practically disappeared

So well defined were the flavor and odor of germ B that even with the use of a 45 % starter of germ A a mere trace of germ B could still be recognized. In our experience germ B could scarcely be detected by isolation after the acidity of the culture reached fifty degrees. This work has considerable practical significance in the use of starters and has some value scientifically in showing the persistency of germ B.

## VII.

History of germ B<sup>1</sup>).

Source. Micro-organism isolated from the college dairy milk, and is more or less constantly present.

Form and grouping. Bacillus. It is a short rod with bluntly rounded ends. There is a tendency to form short threads, yet it may be found

1) Prof. H. W. Conn has worked out the history of this germ independently and it will appear in his forth coming treatise on "Dairy Bacteria".

single and in pairs as often as in threads. It is very difficult at times to recognize the divisions marking the individuals.

**Size.** Length 1,75—5,25 microns. Diameter 0,58—0,875 microns. The maximum length may be subject to much variation, owing to close union of bacilli in threads. The cultures used for measurement were selected because of the great freedom from thread formation.

**Protoplasm.** A marked homogeneity of the protoplasm exists with metachromatic granules irregularly distributed.

**Pigment.** An orange yellow pigment forms with the full development of the culture and in the presence of oxygen. The growth at first is a yellowish white, gradually shading into orange yellow as further development takes place.

**Spores.** No spore formation has been detected.

**Flagella.** No flagella have been demonstrated.

**Motion.** No motion is visible.

**Staining.** Readily stained with the common aniline stains. No special staining methods have been found applicable.

**Temperature.** Grows most vigorously at 30—35° C. Its range is wide, 15—39° C. It is killed at 60° C for 5 min.

**Colony.** Colonies on gelatin plates start as small, white dots, with microscopical fringed borders which become more and more regular and better defined as the colony matures. The colony rises from the surface, at first in a yellowish white, creamy, semi-spherical mass, and little by little as time passes, turns to a deep orange color, becomes very flat, and the border is sharp. There is little if any liquefaction of gelatin unless the moisture content of the plate is maintained to enable uncurbed development. There is frequently found, in plating this germ, a bunching effect which interferes greatly with satisfactory counts.

**Stab culture (gelatine).** Growth spreads quickly over surface of gelatin. Liquefaction takes place in funnel-shaped manner as soon as growth covers surface. With liquefaction the growth appears as a thick scum on the surface of the base of the funnel or cone, with little sediment at apex of the funnel. The remaining liquefied gelatin remains clear with minute pieces of tenacious particles or zoöglea scattered through it. The funnel gradually works its way towards the bottom of the tube, but several days are required at 20° C.

**Bouillon culture.** At first culture appears homogeneously cloudy; following this, germs become adherent to glass at the surface, but no scum forms. There is also a decided orange yellow sediment with the clearing of the supernatant fluid. A slimy consistency or ropiness is produced in orginy cultures.

**Agar cultures.** The growth begins as a yellowish white or creamy raised semi-spherical mass, with no great inclination to spread much from point or line of inoculation. The color of pigment develops into deep orange, often passing through a lemon yellow from the creamy stage. In stab agar the growth takes place very slightly below surface but is very abundant over it. The germ does not appear sensitive regarding agar conditions for it develops readily upon the varying agars used for laboratory purposes, as well as upon whey agar, giving a luxuriant development upon each.

**Potato culture.** About the first evidences of growth will be found in a light, shiny, moist, yellow mark appearing along line of inoculation. The creamy aspect so constant in agar and gelatin is easily overlooked,

for it has been in the investigators experience scarcely observable. As the culture ages, the deep orange yellow appears as is the custom with other media.

**Milk culture.** The first noticeable change in milk is a very thin, yellowish layer of digested milk. This occurs rapidly at 20° C if the milk is inoculated with large amounts of culture, and even with minute quantities rapid changes may be instituted. The peptonization of milk advances from the surface downward, causing, so far as can be determined at the start, no alteration of the acidity, but as the culture ages there is a very decided falling off in acidity to phenol-phthalein, with a corresponding increase of alkalinity. Not infrequently a perceptible curding of the milk at the bottom of the flask or tube has been found and for some time it was thought that it was due to contamination. With careful manipulation, the conclusion has been reached that the curding seems a property of some milks through perhaps some products already formed, in other milks through some inherent characteristic or in still others through a possible contamination. The author has secured this curding in milks, sterilized within an hour from the cow, in fresh dairy milk, in old dairy milk, and always in milk cultures upon heating, the age of the culture being the determinative factor. As the milk culture ages, a slimy condition manifests itself and remains permanent thereafter. The odor produced in milk begins with that of cheese, passes into that of pine-apple, and from this to one which touches on putrefaction. The orange yellow pigment is very pronounced in old milk cultures. For a more extended consideration of milk culture, a study of the body of this article should be made.

**Oxygen requirements.** It falls little short of being an obligate aërobe. Hydrogen greatly retards development.

Saccharose bouillon,	acidity reduced from 15° to 6° in 10 da. at 20°
Glucose	" " " " 15° " 10° " 10 " " 20°
Lactose	" " " " 15° " 8° " 10 " " 20°
Levulose	" " " " 15° " 14° " 10 " " 20°

**Starch (soluble) bouillon,** acidity unchanged. Starch reduced to some form of dextrin. No reducing sugar formed.

**Reaction.** Production of alkaline substances in nitrogen degradation from proteid substances. Amido and ammonia compounds found in cultures.

**Gas production.** No gas of any sort ever discovered.

**Indol reaction.** Slightly perceptible in 48 hours.

### Summary.

1) Associative or mixed cultures become significant through the development of two or more micro-organism together in a single series of microbial changes.

2) Associative or mixed natural cultures are not uncommon and have been known for many years in connection with various well known fermentations and disease processes.

3) Studies in which it has been shown that lactic bacteria have been favorably influenced in their growth by other bacteria are not known to the investigator.

4) Lactic bacteria are favorably influenced in their development by the presence of certain other bacteria.

- 5) Indications make this possible influence quite extensive.
- 6) Products manufactured by these bacteria in milk are known to exert the same influence as the living bacteria.
- 7) These products are stable through prolonged sterilization.
- 8) It is necessary, in order to demonstrate this associative action satisfactorily, to note the response of variable milks from different cows to germ growth, otherwise irregular results will be obtained.
- 9) The products of germ B in its growth in milk suggest possibilities but no conclusions may be drawn.
- 10) The influence exerted by germ B in the making of butter and the amount of starter necessary to bury it, indicates the importance of associative influence in practical dairying. This same influence doubtless extends to cheese. Further, when it is recalled that the products of the germ are stable, it is easily seen how pasteurization or sterilization at times becomes ineffective in the preparation of milk for consumption or infant feeding and how easily toxic products may pass through unchanged. At present, however, no one can say how far reaching associative action is or to what practical end it makes its way, but this much is clear: it emphasizes the necessity for pure milk, as to its freedom from bacteria as possible, and as to its proper management.

I wish to add in closing that experiments are now under way to extend this work in its practical bearing and if possible to secure a more intimate knowledge of its nature.

Prof. H. W. Conn Kindly reviewed this manuscript, an act for which the writer is exceedingly grateful.

Michigan Agricultural College, July 13, 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Bemerkung zu der Arbeit des Herrn Dr. E. Pantanelli über Pression und Tension der Hefen<sup>1)</sup>.

Von N. H. Swellengrebel, Amsterdam.

Vor kürzerer Zeit hat Herr Dr. E. Pantanelli eine interessante Arbeit veröffentlicht, welche sich mit demselben Gegenstand beschäftigt, worüber ich vor einiger Zeit einen Aufsatz veröffentlicht habe<sup>2)</sup>, i. e. über die Turgorregulation bei den Hefen. In dieser Arbeit hat P. unsere Kenntnis über diesen Gegenstand wesentlich erweitert.

P. hebt hervor, es sei nicht zu verwundern, daß wir nicht ganz zu denselben Resultaten gelangt seien, da wir uns ein ungleiches Ziel stellten und mit verschiedenen Methoden arbeiteten. Trotzdem hat er einiges gegen meine Arbeit eingewendet, welche Einwände ich hier kurz zu besprechen beabsichtige. Zuerst schreibt P., ich habe mich nicht reiner Hefen bedient. Um zu verhüten, daß man denken würde, daß ich mich einer ganz unbestimmten Kultur bedient habe, sei hier bemerkt, daß ich mit Preßhefe der Delfter Hefe- und Spritfabrik gearbeitet habe, welche ein Gemisch zweier obergärigen, auf verschiedene Weise gezüchteter Rassen darstellt. Ich habe mich gerade dieses Gemisches bedient, um Mittelwerte zu erhalten, welche ich übrigens bei meinen Versuchen über die Permeabilität immer mit einer reinen Hefe (Steinberg) kontrolliert habe.

1) Rendiconti della R. Ac. dei Lincei. 1905. 18 giugno. p. 720—726.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. No. 12/15 und 15/16. p. 374—388 und 481—492.

Zweitens<sup>1)</sup> wendet Verf. gegen meine Versuche ein, ich habe zur Messung des Turgors NaCl-Lösung benutzt, trotzdem dieses Salz etwas intrameat sei. Ich möchte hierzu bemerken, daß diese Intrameabilität (wenigstens meinen Hefen gegenüber) so verschwindend klein ist, daß meine Werte dadurch höchstens um 0,008 Mol. sich ändern würden, Unterschiede, welche ganz in die Grenze der Versuchsfehler fallen. Hierdurch können also die Werte meiner Versuche nicht beeinträchtigt werden.

Als dritter Einwand P.s sei angeführt, ich habe die Tension der Zelle<sup>1)</sup> nicht berücksichtigt. Es würde genügen, auf meine Arbeit zu verweisen, um die Unrichtigkeit dieser Behauptung klarzulegen. Zum besseren Verständnis werde ich hier aber noch einmal die Sachlage rekapitulieren:

Plasmolysiert man Hefezellen einer 24 Stdn. alten, also in lebhafter Sprossung begriffenen Kultur in immer weniger konzentrierten Lösungen, so sieht man, daß schon bei  $\pm 1$  Mol. NaCl die Plasmolyse bei den einzelnen Zellen zurückgegangen ist, obwohl sie ihre normale Größe noch nicht zurückbekommen haben. Da nach meiner Erfahrung die Messung der Zellengröße und der Vakuolen kein genauer Maßstab ist zur Bestimmung der plasmolytischen Grenzkonzentration, habe ich nach einer anderen Methode gesucht, um diese Werte zu ermitteln; ich habe diese, gestützt auf die folgende Beobachtung, gefunden: Obwohl in einer Lösung von 1 Mol. NaCl der plasmatische Wandbeleg sich schon wieder der Membran angeschmiegt hat, ist dieses nicht der Fall in der Verbindung einer Mutter- und Tochterzelle. In solch einer Verbindung, wo die Tochterzelle schon eine eigene Wand besitzt, vielleicht sich schon eine Querwand gebildet hat, kann man sehr genau die Fortschritte der Deplasmolyse verfolgen, denn obwohl auch hier das Plasma nach den Wänden gerückt ist, haben der Mutter- und Tochterprotoplast sich in dem Isthmus zwischen den beiden Zelllumina noch nicht vereinigt (oder haben sich noch nicht der gemeinschaftlichen Querwand angeschmiegt). Es bleibt also zwischen den beiden Protoplasten ein leerer Raum, dessen Breite mit abnehmender Konzentration der plasmolysierenden Lösung sich fortwährend verringert. Bei einer Konzentration von 0,275 Mol. NaCl ist dieser Raum ganz mit Plasma ausgefüllt, die Deplasmolyse also vollkommen. Zugleich hat nun aber die Zelle und Vakuole ihre normale Größe zurückbekommen. Es wurde als plasmolytische Grenzkonzentration jene betrachtet, die noch ein gerade sichtbares Lumen zwischen den beiden Protoplasten hervorrief. Hieraus ist nun aber auch ersichtlich, daß die auf diese Weise erhaltenen Werte nicht die Pression + Tension vorstellen, sondern nur die Pression der Zelle. Meines Erachtens ist P. also nicht berechtigt, zu behaupten, daß meine Zahlen nur relativen Wert beanspruchen können.

Was den Einfluß anbelangt, den das Alter der Kultur auf die Größe des Turgors ausübt, so möchte ich bemerken, daß es P. nicht gelungen ist, einwandfrei zu zeigen, daß hier nur ein Einfluß des Alters vorliegt. Ich hatte nach dreitägiger Kultur keine Turgorschwankung beobachtet, und schloß hieraus, das Alter habe keinen Einfluß auf den Turgor. P., der seine Versuche viel länger fortgesetzt hat, fand, daß die Pression bis zum Ende der Gärung fortwährend ansteigt, in den ersten Tagen langsam, dann schneller. Nach Beendigung der Gärung fällt sie wieder.

1) Zur Erklärung der Termina Turgor, Pression und Tension sei hier gesagt, daß Tension den Spannungsdruck der gedehnten Membran bezeichnet, Pression den osmotischen Druck + Quellungsdruck des Plasmas; sie ist dem Turgor, vermindert durch die Tension, gleich.

P. hebt aber selbst hervor, daß diese Aenderung zusammenhänge mit einer Erhebung der osmotischen Leistung der Substrate, eine Folge der Zerlegung größerer Molekeln in kleinere. Es leuchtet aber ein, daß man dadurch keine Berechtigung hat, die Schwankung der Pression alternder Kulturen auf den Einfluß des Alters zurückzuführen. Die Steigerung der Pression ist vielmehr eine Aeüßerung einer Anatonose, der Erhöhung der osmotischen Leistung des Substrats zufolge; andererseits ist die nachträgliche Verringerung der Pression nach der Gärung meines Erachtens auf eine Beeinträchtigung der Zellenreaktion zufolge einer Autointoxikation mit Stoffwechselprodukten zurückzuführen. P. hat also nicht einwandfrei nachweisen können, daß das Alter an und für sich auf die Turgorgröße irgend welchen Einfluß ausübt. Ebenso wenig ist es ihm gelungen, einen Einfluß des Alters auf die Turgorregulation nachzuweisen. Er hat hierbei darauf geachtet, daß eventuell spontane Aenderung der osmotischen Leistung der Substrate keinen Einfluß ausüben könnte. Er züchtete 2 Parallelkulturen in gleicher Menge flüssigen Nährsubstrates, filtrierte nach einiger Zeit eine ab, versetzte die keimfreie Flüssigkeit mit 1 Mol. NaCl und fügte diese Lösung der zweiten Kultur zu. Die Lösung war also ganz bestimmt um genau 0,5 Mol. NaCl konzentrierter geworden. P. fand, daß ältere Kulturen ihren Turgor weniger intensiv regulierten als jüngere. Ungeachtet dieser Vorsichtsmaßregel sind die Versuche doch nicht einwandfrei, da es ja nicht ausgeschlossen ist, daß die mangelhafte Reaktion auf Vergiftung mit Stoffwechselprodukten zurückzuführen ist.

Zuletzt sei es mir erlaubt, eine Bemerkung zu machen in Betreff des Einflusses des Lüftens auf den Turgor. P. hat festgestellt, daß mangelhafte Lüftung oder Durchleitung von H oder N oder CO<sub>2</sub> den Turgor herabdrückt. P.s Hefe verhält sich also in dieser Hinsicht anders als die meinigen, die, nach Buchner anaërob gezüchtet, keine Turgorerniedrigung aufwiesen. P. scheint aus meiner Arbeit zu folgern, daß ich meine Ergebnisse auf alle Hefen verallgemeinern wolle. Er sagt, ich habe mit zu großer Eile behauptet, daß der Turgor der Hefen unabhängig von der Lüftung sei. Liest man aber meine Arbeit daraufhin nach, so wird man ersehen, daß dem nicht so ist. Wörtlich steht da: „Man ist immerhin berechtigt, zu behaupten, daß die Preßhefe sich ziemlich indifferent verhält gegenüber Sauerstoffmangel, was den Turgor anbelangt.“ Ich will gestehen, daß man in diesem Satz statt „die“ eher „diese“ hätte schreiben sollen. Immerhin kann man hieraus nicht lesen, daß ich den Satz für alle Hefen will gelten lassen, was ich auch niemals beabsichtigte.

Ich glaube, durch das hier Geschriebene die Einwände P.s genügend widerlegt zu haben. Resumierend sei gesagt, daß P. gezeigt hat, daß nicht alle Hefen einen gleich großen Turgor in sauerstoffarmer wie in sauerstoffreicher Umgebung haben, wie es mit meinen Hefen der Fall war; des weiteren, daß es P. nicht gelungen ist, einwandfrei die Einflüsse des Alters auf den Turgor und die Turgorregulation nachzuweisen; endlich, daß P. hat feststellen können, daß bei seinen Hefen bei der Anatonose ein deutlicher Maximalwert des Turgor (Bergwert) sich einstellt, bevor der Endwert des Turgors erreicht wurde, ein Ereignis, das ich nur einmal beobachtet habe<sup>1)</sup>. Auch in dieser Hinsicht verhalten die verschiedenen Hefen sich ungleich.

1) Wenn P. also behauptet, ich verneine das Bestehen dieses Phänomens, ist dieses nicht ganz richtig.

## Die Zersetzung der Fette.

Von Dr. Otto Rahn.

[Aus dem milchwirtschaftlichen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts in Göttingen.]

Mit 1 Figur.

Die Beobachtung verschiedener Forscher<sup>1)</sup>, daß Fette durch Mikroorganismen nur bei vorzüglicher Stickstoffernährung zersetzt werden, ist mir stets unwahrscheinlich gewesen. Da alle eiweißartigen Körper sehr leicht zersetzt werden, die Fette dagegen sehr langsam, so wird bei der Fäulnis organischer Substanzen häufig noch Fett oder Fettsäure zurückbleiben, wenn bereits alle Stickstoffsubstanzen bis zu Ammoniak bzw. Salpetersäure abgebaut sind. Dies wird namentlich bei der anaëroben Fäulnis der Fall sein, da unter diesen Bedingungen die Fette wahrscheinlich gar nicht angegriffen werden. Es bleiben also vermutlich bei der Verwesung noch Fette zurück, wenn bereits alle Stickstoffsubstanzen in einfachste Verbindungen übergeführt sind, und diese Fettreste können nur durch Organismen zersetzt werden, die bezüglich der Stickstoffnahrung sehr anspruchslos sind.

Es gelang mir nach einigen vergeblichen Versuchen, solche Organismen durch Anhäufungsverfahren und besondere Kulturmethoden in Reinkultur zu gewinnen. Ich füllte zwei große Glasgefäße halb mit Erde, mischte dieselbe mit etwas Fett und goß Leitungswasser darauf, so daß die Wasseroberfläche mehrere Centimeter über der Erdoberfläche stand. Das eine Glas enthielt Palmfett, das andere Schweinefett. Nach 14 Tagen hatte sich auf beiden Flüssigkeiten eine dünne, spröde Haut gebildet; nach 4 Wochen war dieselbe dick und braunschwarz geworden. Von dem Gefäß mit Palmfett wurde nach 4 Wochen die Haut entfernt, nach 5 Tagen war bereits eine neue gebildet; diese wurde wieder abgeschöpft, und dies wiederholte ich nach 6, 7, 9 und 12 Wochen. Im letzten Falle besaß die Haut 0,4 g Trockensubstanz mit 12 mg = 3 Proz. Stickstoff. Die frische junge Haut bestand aus großen Bacillen, zwischen denen bewegliche Bakterien, Kokken und Spirillen der verschiedensten Art herumwimmelten. Eine besonders große Spirillenart war durch die Dicke der Zellen und durch starke Granulierung ausgezeichnet. Es gelang mir nicht, dieselbe zu kultivieren, da sie auf den gewöhnlichen Nährböden nicht wuchs. Auch chemotaktische Anhäufungsversuche mit Weinsäure und Zucker blieben erfolglos. Auf Gelatineplatten entwickelten sich *Bacillus fluorescens liquefaciens* und verschiedene Langstäbchen; keine der isolierten Arten zersetzte Schweinefett, welches in Asparaginmineralsalzlösung emulgiert war. Ich sah mich also zu weiteren Anhäufungsversuchen genötigt.

Ein Erlenmeyer-Kolben wurde mit ein wenig Erde, Wasser und geschmolzenem Palmfett bis zum Erstarren des Fettes geschüttelt; ein anderer Kolben wurde in der gleichen Weise mit Schweinefett präpariert. Der Palmfettkolben zeigte nach 4 Wochen eine Haut, die zum Teil aus *Azotobacter* bestand. Das mikroskopische Bild und das Wachstum auf Mannitagar waren so charakteristisch, daß ich einen Irrtum für aus-

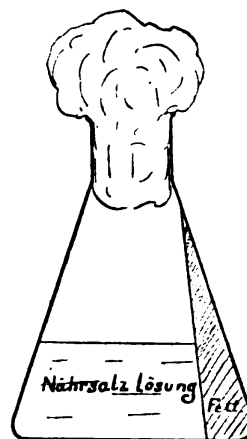
1) Literatur über Fettzersetzung siehe mein Sammelreferat. (Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. XV. p. 54.)



geschlossen halte. Die von Mannitagar auf Fettemulsionen mit genügenden Nährsalzmengen abgeimpften Kulturen wuchsen gar nicht, auch nicht in Mischkultur mit anderen Organismen, welche aus diesem Versuch mit Gelatineplatten isoliert wurden. Der Schweinefettkolben bekam nach 8 Wochen ebenfalls eine Haut, die mit *Azotobacter* reichlich durchsetzt war. Vielleicht hat sich der *Azotobacter* auf Kosten des Glycerins vermehrt, welches andere Organismen durch lipolytische Enzyme aus dem Fett abspalteten.

Bei einem dritten Anhäufungsversuch wurde eine Emulsion von altem ranzigen Butterfett in Mineralsalzlösung längere Zeit offen bei  $28^{\circ}$  stehen gelassen. Es entwickelte sich langsam eine dicke schwarze Schimmeldecke auf der Flüssigkeit. Die auf Gelatineplatten isolierten Organismen, mehrere Bakterienarten, darunter *Bacillus fluorescens liquefaciens*, und ein *Dematium* wuchsen sämtlich nicht in Mineralsalz-Ammoniaklösung mit Palmfett.

Bei den Anhäufungskulturen war jedenfalls eine Fettzersetzung eingetreten, denn die große Menge der darin gewachsenen Bakterien hatte keine andere organische Nahrung als das Fett. Die Fehlversuche konnten daher entweder an der Kulturmethode liegen, oder auch daran, daß Fäulnisbakterien die fettspaltenden Bakterienarten überwucherten. Diesem letzten Versuchsfehler konnte durch mehrmaliges Ueberimpfen vorgebeugt werden. Ich impfte also von den ersten Anhäufungsversuchen in neue Kolben mit Palmfett und Mineralsalz - Ammoniaklösung. Da bei den früheren Experimenten eine gute Beobachtung des Bakterienwachstums deshalb unmöglich war, weil das an den Gefäßwänden erstarrte Fett die Wände undurchsichtig machte, so modifizierte ich die Versuchsanordnung, wie es die beistehende Figur zeigt. Das geschmolzene Fett wurde in einen schrägliegenden Erlenmeyer-Kolben so gegossen, daß es nur einen kleinen Teil der Glaswand benetzte, und erst nach dem Erstarren des Fettes wurde der Kolben aufgerichtet und mit der Nährsalzlösung beschickt. Die Lösung hatte in allen weiteren Versuchen folgende Zusammensetzung:



0,5 Proz.  $K_2HPO_4$   
 0,5 „  $(NH_4)_2PO_4$   
 0,1 „  $MgSO_4$   
 0,1 „  $CaCl_2$   
 Spur  $FeCl_3$   
 Spur  $HCl$

Diese Lösung wurde vor dem Gebrauch mit 10-proz. Natronlauge sorgfältig bis zur amphoteren Reaktion gegen Lackmus neutralisiert. Sie wurde dabei trübe durch Magnesiumammoniumphosphat; der Niederschlag wurde nicht abfiltriert.

Drei große, in dieser Weise präparierte Kolben wurden mit Material aus den oben beschriebenen Anhäufungsversuchen geimpft: Kolben I mit einem Stückchen Haut vom ersten Anhäufungsversuch, Kolben II mit der hautfreien Flüssigkeit aus dem gleichen Gefäß, Kolben III mit Flüssigkeit aus dem zuletzt erwähnten Versuch mit Butterfettemulsion. Ein Kontrollkolben mit Nährsalzlösung ohne Fett wurde ebenfalls geimpft.

Nach 5 Tagen trübte sich die Lösung in den drei Fettkolben. Nach 12 Tagen ist in den Gefäßen I und II, welche die gleiche Flora zeigen,

Schimmelwachstum eingetreten. In der trüben, grünlichen Flüssigkeit liegen Mycelballen, auf der Oberfläche und auf dem Fett fruktifiziert *Penicillium glaucum* und bildet große Coremien bis zu 2 cm Höhe; das Fett zeigt an der Wasserlinie prachtvoll rote und hellorangefarbene Flecke. Nach 20 Tagen ist fast die ganze Fettschicht rot und orange gefärbt. Die Flüssigkeitsoberfläche ist fast vollständig bedeckt mit *Penicillium glaucum* und dem hohen schneeweißen Rasen eines Schimmelpilzes mit sichelförmigen Sporen. Nach einem Monat ist an den gelben Stellen Fruktifikation bemerkbar. Es gelang hier ein gelbes *Penicillium* zu isolieren, welches Fett in anorganischer Salzlösung zersetzte. Auch der schneeweiße Schimmel konnte rein gezüchtet werden, ebenso *Penicillium glaucum*.

Der Kolben III zeigte anfangs kein Schimmelwachstum. Große grüne Streifen ziehen sich über das Fett hin bis zu 20 cm über dem Wasserspiegel. Nach 20 Tagen ist das Fett ganz grün. Einige Schimmel fangen an zu wachsen, bleiben aber kümmerlich. Dann beginnt eine intensive Vegetation eines graugrünen, später schwarzen Pilzes, der schließlich die ganze Fettoberfläche überzieht. Der Kontrollkolben ohne Fett blieb während der ganzen Zeit unverändert.

Nach drei Monaten hatte das Fett in allen drei Kolben tiefe Löcher; unterhalb der Wasseroberfläche war es fast vollständig verschwunden. Andere Versuche, die ganz analog den eben beschriebenen angestellt wurden, zeigten ebenfalls eine starke Zersetzung des Fetts. Einige Kolben zeigten nur Bakterienwachstum ohne jede Schimmelentwicklung; die Flüssigkeit wurde bei diesen Versuchen stark trübe mit leicht grünlichem Schimmer, der später in schmutziges Graugelb überging; die anfangs glatte Fettoberfläche wurde körnig, in einigen Kolben zogen sich dicke Schleimpolster bis hoch über die Wasseroberfläche. Andere Kolben zeigten vorwiegend Schimmelwachstum, und sowohl rote wie gelbe Flecke durchsetzten hier das Fett. In einem Falle wurde auch ein deutlicher blauer Streifen an der Grenze zwischen Wasser, Luft und Fett bemerkt. Es gelang nicht, einen Organismus mit blauer Farbstoffbildung zu isolieren, es ist jedoch möglich, daß die Bläuung durch denselben Pilz hervorgerufen wurde, der den roten Farbstoff bildet, denn eine Reinkultur dieses Pilzes bildete sowohl auf Palmfett wie auf Butterfett gelegentlich kleine violette Bezirke.

Ich erwähnte schon, daß die Isolierung von fettspaltenden Organismen mir mit den gewöhnlichen Nährböden nicht gut gelingen wollte. Ein Versuch, eine Emulsion von sehr viel Palmfett mit ein wenig Nährsalzlösung als festen Nährboden zu benutzen, mißglückte vollständig. Ich machte mir daher eine Mineralsalzammoniaklösung mit 1,5 Proz. Agar und schüttelte die geschmolzene Masse mit Palmfett sehr heftig. Die Emulsion rahmte sehr schnell auf, und ich trennte die fettreiche obere Schicht von der fettarmen, welche aber noch genügende Mengen von Fett enthielt, um fettzersetzende Bakterien zu ernähren. Der Nährboden war durch die ganz kleinen Fetttröpfchen leicht getrübt. Mit diesem Substrat legte ich von allen meinen Kulturen Platten an, erhielt aber stets nur zwei Bakterienarten und einige Schimmel. Von den Bakterien war die eine Art, *Bacillus α*, ein lebhaft bewegliches, verflüssigendes Langstäbchen, welches einen grünen fluorescierenden Farbstoff bildet; es wächst vorzüglich auf allen gewöhnlichen Nährböden; der in Bouillonagarkulturen gebildete Farbstoff wird später rötlich-braun; ein charakteristischer Unterschied zwischen dem *Bacillus fluorescens*

liquefaciens und unserem Bacillus konnte nicht festgestellt werden. Das zweite Bakterium, Bacillus  $\beta$ , war ebenfalls ein Langstäbchen, ein wenig kleiner als der Bacillus  $\alpha$ ; Bewegung konnte nie wahrgenommen werden; die Zellen liegen reihenförmig mit ziemlichen Abständen voneinander in einer Schleimmasse eingebettet. Dieser Organismus wächst ebenfalls auf allen gewöhnlichen Nährböden gut.

Von anderen Pilzen erhielt ich Penicillium glaucum, welches grün-gelbe Flecken in Fett verursacht, ein Penicillium mit gelb-braunen Sporen (P. luteum?), welches das Fett gelb färbt, und den schon erwähnten schneeweißen Schimmel mit den sichelförmigen Sporen, der die prachtvoll rote Farbe erzeugte. Dieser Pilz wächst auf gewöhnlichen Nährböden ohne eine Spur von Farbstoffbildung. Ferner wurde ein grauer Pilz isoliert, bei welchem keinerlei besondere Fruktifikation zu bemerken war. Er schnürte am Ende der Hyphen hefeförmige Zellen ab. Zu diesen Organismen kam später noch eine sehr kleine Hefe, die das Fett nur wenig angriff.

Sehr hübsch war die fettspaltende Eigenschaft der Bakterien in dem durch Fetttröpfchen getrübbten Agar veranschaulicht. Um die Kolonien herum war ein klarer Hof zu sehen, und die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß in diesen Höfen die Fetttröpfchen fast vollständig verschwunden waren. Wurden diese Agarplatten mit Alkohol und Aether behandelt, so wurden sie gleichmäßig klar. Auch einige der Schimmelpilze bildeten solche Höfe. Wir haben hier ein hübsches Analogon zu den Kreidenährböden und Milchnährböden, bei welchen die Gegenwart besonderer Bakterienarten durch Aufhellung der künstlichen Trübung angezeigt wird.

Um festzustellen, wie groß die Fettmenge ist, die von diesen Organismen vollkommen zerstört wird, wurden einige quantitative Versuche angestellt. Circa 0,1 g Palmfett wurde in Erlenmeyer-Kölbchen genau gewogen, sterilisiert, mit 10 bzw. 20 ccm steriler Nährsalzlösung beschickt und geimpft. Nach 27 Tagen wurde das Fett mit Aether zurückgewonnen und gewogen. Der Fettverlust betrug

bei Penicillium glaucum	15 und	22 mg	(10 ccm Lösung)
„ Penicillium, gelb	8 „	27 „	(10 „ „ )
„ weißem Schimmel	14 „	24 „	(10 „ „ )
„ grauem Schimmel	83 „	105 „	(20 „ „ )
„ Bacillus $\alpha$	55 „	66 „	(20 „ „ )
„ Bacillus $\beta$	47 „	57 „	(20 „ „ )

Die verbrauchten Fettmengen sind also nicht sehr groß. Ganz offenbar dokumentiert sich hier der Einfluß der Flüssigkeitsmenge. Da in jeder Lösung die Zahl der Bakterien eine bestimmte, bei verschiedenen Arten allerdings recht verschiedene Grenze nicht übersteigt, so ist es klar, daß in 20 ccm doppelt soviel Bakterien sich entwickeln können als in 10 ccm, denn ein Nahrungsmangel ist nicht eingetreten, da immer noch beträchtliche Fettmengen zurückgewonnen wurden. Daß übrigens die Fettzersetzung auch größere Dimensionen annehmen kann, zeigt die letzte Tabelle über Zersetzung von Butterfett; hier sind in 3 Wochen in 200 ccm Lösung 0—2 g Fett verschwunden. Der geringe Fettverbrauch bei recht kräftigem Wachstum ist auffallend, man kann denselben einmal durch die geringe Löslichkeit der Fette in Wasser, ferner durch ihre hohe Verbrennungswärme erklären. Die Verbrennungswärme des Fettes ist bedeutend höher als die der Bakterien- bzw. Schimmelnkörpersubstanz. Sie verhalten sich etwa wie 9500 zu 4500 Kal.; zur Bildung

von 1 g Zellschubstanz ist also 1 g Fett theoretisch vollständig genügend. Jedenfalls wird sehr wenig Fett durch Atmung zerstört.

Um festzustellen, ob das Glycerin oder die Fettsäuren den wichtigsten Faktor bei der Ernährung der Pilze mit Fetten bildete, wurden alle Organismen einerseits in Mineralsalz-Ammoniaklösung mit Glycerin, andererseits in die gleiche Lösung mit Stearinsäure bzw. Palmitinsäure geimpft.

Das Glycerin erwies sich in allen Fällen als ein ganz vorzüglicher Nahrungsstoff. Die Schimmel bildeten in 2–3 Tagen große Mycel-flocken, nach 4–5 Tagen war die Oberfläche mit schwimmendem Mycel zugewachsen, nach 7 Tagen bildeten die beiden *Penicillium*-Arten kleine Coremien. Nach 20 Tagen war bei *Penicillium glaucum* die Flüssigkeit orangefarben, durch Mycel getrübt; darüber wuchs eine dicke schwarz-grüne Schimmeldecke; das andere *Penicillium* zeigte eine klare hellgelbe Flüssigkeit. Mycel war nur an der Oberfläche dicht unter der gelb-braunen Pilzdecke. Der schneeweiße Schimmel hatte eine weiße, stark gefaltete Decke und starkes Mycel in der hellgelben Lösung gebildet. Der graue Pilz trübte die Flüssigkeit durch grau-grüne Mycelballen. Die Decke war dünn und grau-schwarz. Die Hefe bildete einen schwachen Bodensatz. *Bacillus α* trübte die Glycerinlösung anfangs stark; später klärte sich die Flüssigkeit ein wenig und sah grün-gelblich fluorescierend aus wie geschmolzene gelbe Vaseline. *Bacillus β* bildete einen starken schleimigen Bodensatz; die Flüssigkeit war farblos trübe.

Stearinsäure stellte ich mir selber dar, da alle mir als Acid. stearat. puriss. angebotenen Präparate nicht rein waren. Reine Palmitinsäure verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn A. Müller in Göttingen, der dieselbe im Laboratorium von Herrn Geheimrat Tollens dargestellt hatte.

Die Schimmel wuchsen sowohl auf Palmitinsäure wie Stearinsäure nicht sehr gut, die Coremien waren recht klein. Auch die Bakterien entwickelten sich nur sehr langsam, *Bacillus α* ohne Farbstoffbildung, ebenso der weiße Schimmel. Die beistehende Tabelle zeigt die Menge

	Stearinsäure			Palmitinsäure		
	zugesetzt	zurück- halten	ver- schwun- den	zugesetzt	zurück- halten	ver- schwun- den
<i>Penicillium glaucum</i>	44,9 mg	28,8 mg	16,1 mg <sup>1)</sup>	142,9 mg	111,0 mg	31,9 mg
„ „	45,6 „	18,0 „	27,6 „	125,3 „	100,6 „	24,7 „
„ gelb	63,8 „	36,8 „	27,0 „	97,9 „	77,2 „	20,7 „
„ „	47,9 „	31,3 „	16,6 „	109,3 „	78,6 „	30,7 „
Weißer Schimmel	46,6 „	37,8 „	8,8 „ <sup>1)</sup>	110,9 „	64,5 „	46,4 „
„ „	67,0 „	27,6 „	39,4 „	100,5 „	60,6 „	39,9 „
Grauer „	—	—	—	133,2 „	106,3 „	26,9 „
„ „	—	—	—	128,6 „	107,9 „	20,7 „
<i>Bacillus α</i>	50,3 „	35,2 „	15,1 „	107,6 „	90,7 „	16,9 „
„ „	51,3 „	18,6 „	32,7 „	92,5 „	79,3 „	13,2 „
„ β	49,0 „	21,2 „	27,8 „	127,5 „	116,5 „	11,0 „
„ „	51,7 „	23,1 „	28,6 „	93,3 „	81,4 „	12,9 „

der nach 45 Tagen in je 25 ccm Nährlösung verbrauchten Säure. Eine Bevorzugung einer besonderen Säure ist hier nicht zu konstatieren; ich hatte den Versuch mit diesen beiden Säuren angestellt, um zu sehen,

1) Die Kulturen waren aus unbekanntem Grunde sehr kümmerlich gewachsen.

ob die Kohlenstoffatomzahl für die Verwertbarkeit maßgebend ist und ob die Stearinsäure mit  $3 \times 6$  C-Atomen sich für den Körperaufbau besonders gut eignet, da alle Kohlehydrate Multipla von 6 C-Atomen aufweisen. Nach diesem kleinen Versuch zu urteilen, ist dies jedoch nicht der Fall.

Um nun weitere Anhaltspunkte darüber zu gewinnen, in welcher Weise die Fette zersetzt werden, wurden die durch Mischkulturen und Reinkulturen zersetzten Fette mit Aether wiedergewonnen und analysiert. Die Analyse beschränkte sich meist auf die Bestimmung der Acidität, Reichert-Meissl-Zahl und Jodzahl; bei einigen wurde noch das Molekulargewicht der nicht flüchtigen, bei der Destillation nach Reichert-Meissl zurückbleibenden Säuren durch Titration bestimmt, jedoch konnten hierdurch keine Anhaltspunkte für die Art per Fettzersetzung gewonnen werden. Die Analyse der bei den Anhäufungsversuchen zersetzten Fette gab folgende Resultate:

	Acidität	Reichert-Meissl-Zahl	Jodzahl
Palmfett, unzersetzt	0,2	5,7	6,6
„ aus den Kolben mit Schimmelwachstum nach 3 Monaten	11,3	3,0	6,6
„ aus den Kolben mit Bakterienwachstum nach 3 Monaten	1,4	6,0	3,3
„ aus den Kolben mit Bakterienwachstum nach 4 Monaten	4,2	7,0	7,1

Die Jodzahlen sind nicht maßgebend, da die Kolben im diffusen Licht standen; merkwürdig ist freilich der Rückgang der Jodzahl gerade nur in dem einen Versuch. Die Acidität ist ausgedrückt in Kubikcentimeter  $\frac{n}{10}$  Lauge, die zur Neutralisation von 1 g Fett in alkoholischer Lösung mit Phenolphthalein nötig ist. Die Schimmel spalten das Fett nach den obigen Daten viel weitgehender als die Bakterien, und alle Versuche mit Reinkulturen bestätigen dieses Resultat, ebenso bevorzugen die Schimmel die flüchtigen Säuren weit mehr als die Bakterien, wie wir dies beim Butterfett noch deutlicher sehen werden.

Zur Untersuchung über die verschiedene Wirkung der Reinkulturen wurden in großen Erlenmeyer-Kolben je 10 g Palmfett sterilisiert, mit 200 ccm steriler Nährlösung versetzt und geimpft. Anfangs war kein Wachstum bemerkbar, und es zeigte sich, daß bei diesen Organismen noch mehr wie bei anderen<sup>1)</sup> die Impfmenge nicht zu klein sein darf, wenn die Kultur überhaupt wachsen soll. Nach der zweiten,

Palmfett, 10 Tage lang zersetzt.

	Acidität	Reichert-Meissl-Zahl	Jodzahl
Bacillus $\alpha$	7,8	3,9	—
„ $\beta$	2,3	4,4	6,21
Penicillium glaucum { 1.	6,8	3,0	7,27
2.	6,0	3,2	7,16
Weißer Schimmel { 1.	5,8	6,6	—
2.	9,5	3,3	6,75
Kontrollfett	0,3	5,5	6,40

1) Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. Bd. III. p. 99.

reichlichen Impfung entwickelten sich sämtliche Kulturen gut, bei den Schimmelpilzen war jedoch Infektion eingetreten. Der Versuch wurde daher nach 10 Tagen abgebrochen und neu angesetzt. Ein gleicher Versuch wurde mit Butterfett gemacht. Die Analysen der zersetzten Fette zeigen die Tabellen. Die Jodzahl ist in fast allen Fällen höher als die des Kontrollfettes; es werden sich also bei der Fettzersehung irgendwelche jodbindenden Substanzen, vielleicht ungesättigte Verbindungen aus dem Glycerin, gebildet haben. Wir bemerken dasselbe bei dem zweiten 4-wöchentlichen Palmfettversuch, sowie bei der Zersetzung des Butterfettes. Die niedrigsten Jodzahlen zeigen *Bacillus α* (*fluorescens*) der graue Schimmel und *Bacillus β*. Da die Kulturen sämtlich in dunklen Schränken standen, war eine Beeinflussung der Jodzahl durch das Licht ausgeschlossen.

Palmfett, 4 Wochen lang zersetzt.

	Acidität	Reichert-Meissl-Zahl	Jodzahl
<i>Penicillium glaucum</i>	9,7	4,7	7,40
" "	10,2	3,2	8,03
" gelb	8,1	5,2	7,67
" "	15,8	3,6	8,70
Weißer Schimmel	18,3	3,6	9,04
" "	20,0	5,7	7,34
Grauer "	3,1	4,9	6,08
" "	3,3	4,2	—
<i>Bacillus α</i>	14,0	4,1	5,92
" <i>β</i>	5,8	3,8	6,01
Kontrollfett	0,3	6,2	4,23

Die Reichert-Meissl-Zahl ist in allen Fällen geringer geworden; eine ausschließliche Verzehung der festen Fettsäuren hat also nicht stattgefunden. Die Fettspeilung und Fettverzehung ist sehr verschieden. Die beiden *Penicillien*, der weiße Schimmel und *Bacillus α*, sind die stärksten Fettzerstörer. Der graue Schimmel, der *Bacillus β* und die Hefe haben nur ein sehr geringes Fettspeilungsvermögen.

Butterfett, 3 Wochen lang zersetzt.

	Angewandte Fettmenge	Verschwundene Fettmenge	Acidität	Reichert-Meissl-Zahl	Jodzahl
<i>Penicillium glaucum</i>	13,1 g	1,2 g	25,1	8,2	31,6
" gelb	13,1 "	0,6 "	18,0	13,3	29,7
Weißer Schimmel	13,1 "	0,6 "	15,3	18,2	29,2
Grauer "	13,1 "	0 "	2,7	25,3	28,7
<i>Bacillus α</i>	13,1 "	2,0 "	16,7	[14,2] ? 1)	27,5
" <i>β</i>	13,1 "	0,1 "	6,3	—	29,0
Hefen	13,1 "	0 "	1,2	27,2	28,9
Kontrollfett	13,1 "	— "	0,3	27,1	28,9

Die großen Differenzen bei Parallelversuchen sind natürlich in erster Linie auf die verschiedene Entwicklung des Pilzes in der Nährlösung zurückzuführen, sodann auf die Flüssigkeitsoberfläche, die Verteilung des Fettes und die Luftzufuhr. Dazu kommen aber noch andere Fehlerquellen. Die Pilze lagern bei Fetternährung den Zellen reichliche Mengen von ölartigen Substanzen als Reservestoffe ab; ich konnte

1) Die Zahl ist infolge eines Versuchsfehlers nicht unbedingt zuverlässig.

solche stark lichtbrechende Tröpfchen in den Schimmelmycelien regelmäßig wahrnehmen; sie färbten sich nach der von Meyer<sup>1)</sup> zum Nachweis von Fetten angegebenen Methode. Nun sind diese Reservestoffe wahrscheinlich keine echten Fette, sondern mehr wachsartiger Natur. Sie werden aber beim Ausäthern der Kulturflüssigkeiten wenigstens zum Teil mitextrahiert und beeinflussen die Analyse. Ferner wird die Reichert-Meissl-Zahl dadurch beeinflusst, daß die durch lipolytische Enzyme freigemachten Säuren sich zum Teil verflüchtigen. Bei der Zersetzung des Butterfettes durch die beiden Penicillien war der Geruch nach Buttersäure sehr intensiv. — Ferner bemerkte ich beim Ausäthern der Kulturflüssigkeiten, namentlich bei den Schimmelkulturen in Butterfett, Palmitin- und Stearinsäure, weiße Blättchen in geringen Mengen, welche ich unmöglich als Kristalle der Nährsalzlösung ansehen konnte. Sie waren in Wasser und Aether unlöslich, in Alkohol sehr schwer löslich. Beim Erhitzen verflüchtigte sich die Hauptmenge unter Zurücklassung eines weißen Rückstandes. Vielleicht waren diese Körper Kalk- oder Magnesiaseifen; die Menge war zu einer genauen Untersuchung zu gering.

Bezüglich der Farbstoffbildung möchte ich noch einige kurze Bemerkungen machen. Das Fett scheint die Bildung von Farbstoffen sehr zu begünstigen, doch entstehen sie nur in dicken Fettschichten; in den ersten Versuchen mit 0,1 g Fett wurde dasselbe nicht gefärbt, ebensowenig war bei der Palmitin- und Stearinsäure Farbstoffbildung bemerkbar. Dagegen wurden größere Fettmengen durch einige Pilze sehr schön gefärbt. Die beiden Penicillien bildeten gelbe Farbstoffe von verschiedener Nuancierung, die sich auch im ausgeätherten Fett hielten und durch Alkali nicht verändert wurden. Der rote Farbstoff des weißen Schimmels wird durch Alkali erst schön blau, dann schmutzig-grau; beim Ansäuern rötet er sich wieder. Der *Bacillus α* bildet keinen Fettfarbstoff, nur die wässrige Lösung wird schmutzig grau-grün. Das Fett scheint gerade so, wie die Cellulose nach den Versuchen van Itersons die Farbstoffbildung bei einigen Pilzen hervorzurufen, die sonst diese Eigenschaft gar nicht zeigen.

Ich schließe mit einer kurzen Charakteristik der Fett zersetzenden Eigenschaften. *Penicillium glaucum* und das gelbe *Penicillium* (*luteum*?) besitzen starkes Fettspaltungsvermögen. Sie bevorzugen neben dem Glycerin die niederen Fettsäuren; Oelsäure wird nicht angegriffen. Der weiße Schimmel spaltet das Fett nicht ganz so stark, die flüchtigen Säuren werden zuerst oxydiert, Oelsäure wird nicht angegriffen. Der graue Schimmel und die Hefe zersetzen das Fett nur sehr wenig. *Bacillus α* besitzt sowohl kräftiges Spaltungs- wie Oxydationsvermögen. Er greift die flüchtigen Fettsäuren nicht sehr stark an und zerstört auch die Oelsäure. *Bacillus β* zersetzt das Fett weniger stark; ob er irgend welche Säuren bevorzugt, ist nicht sicher zu behaupten.

Es sei mir gestattet, Herrn Geheimrat Fleischmann für sein Interesse an der Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.

1) Flora. Bd. LXXXVI. 1899. p. 431.

*Nachdruck verboten.*

**Bemerkungen zu der Arbeit von A. Rodella<sup>1)</sup>:  
„Einiges über die Bedeutung der direkten mikroskopischen  
Präparate für das Studium des Käsereifungsprozesses.“**

Von **Gerda Troili-Petersson**, Stockholm.

Rodella beklagt, daß die direkte mikroskopische Untersuchung bei den Studien der Käsereifungsfrage vernachlässigt worden ist. Er scheint jedoch nur die Veröffentlichung Gorinis über dieses Thema zu kennen. Indessen kannte schon Gorini (diese Zeitschrift Bd. XII. p. 78), daß ich vorher die Methode, gehärtete und gefärbte Schnittpräparate zu mikroskopieren, verwendet habe, und erwähnt meine betreffende Abhandlung (diese Zeitschrift Bd. XI. 1903. p. 120. 207), die von 8 photographischen Reproduktionen von gefärbten Schnittpräparaten begleitet war. Ein anderer Teil derselben Arbeit ist Rodella jedoch bekannt (diese Zeitschrift Bd. XIII. p. 593). Ueber die Anordnung der Bakterien im Käse, an gefärbten, mit Mikrotom verfertigten Schnittpräparaten studiert, habe ich schon im Januar 1902 in OestergötlandsLäns Hushållnings-sällskaps Handlingar berichtet. Dieses, was das Studium der Schnittpräparate und der Verteilung der Bakterien im Käse anbelangt.

Wenn man von direkter mikroskopischer Untersuchung der Käse spricht, sind die Arbeiten Johan-Olsens nicht zu vergessen, wo freilich nur die Arten der Mikroorganismen in Ausstrichpräparat studiert werden, nicht aber deren Anhäufungsart besprochen wird. Johan-Olsen sagt (diese Zeitschrift Bd. IV. p. 167), von der Verwendung der direkten mikroskopischen Untersuchung bei einer gewissen Käseart: „Diese Methode erwies sich wie das Ei des Columbus.“

*Nachdruck verboten.*

**Untersuchungen über den Verlauf der Stickstoffumsetzungen  
in der Ackererde<sup>2)</sup>.**

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen  
Instituts der Universität Leipzig.]

Von **Dr. F. Löhns.**

(Schluß.)

Bei der Knochenmehlzersetzung fanden bei sechswöchentlicher Versuchsdauer sehr hohe Stickstoffverluste (25—45 Proz.) statt; ein Entweichen elementaren Stickstoffs konnte (bei allerdings nur wenig zahlreichen Versuchen) nicht konstatiert werden. Gleichwohl resultiert aus der entsprechenden Literaturzusammenstellung, daß es höchst wahrscheinlich ist, daß eine direkte Oxydation des Ammoniaks zu freiem Stickstoff vorkommen kann; weitere spezielle Versuche in dieser Richtung erscheinen sehr nötig. Die Kalkstickstoffspaltung verläuft dagegen, wie ich in diesem Blatte<sup>3)</sup> zeigte, unter günstigen Bedingungen

1) Diese Zeitschrift Bd. XV. p. 143.

2) Habilitationsschrift; S.-A. aus d. Mitteil. d. landw. Instituts d. Universität Leipzig. Heft 7. p. 1—103. Mit 1 Kurventafel.

3) l. c. Bd. XIV. p. 95 f.



innerhalb 6 Wochen restlos. Das Gleiche gilt für die Harnstoffspaltung, und zwar war in diesem Falle die Umsetzung, je nach der Jahreszeit, nach 2—5 Wochen beendet. In dem der Nitrifikation gewidmeten Kapitel kommen die eventuell im Gefolge der Salpeterbildung auftretenden Stickstoffverluste, sowie die im Boden dabei stattfindende Ammonassimilation ausführlich zur Erörterung. Gegenüber den Behauptungen P. Wagners, denen zufolge bei der Nitrifizierung des schwefelsauren Ammoniaks im Acker stets Stickstoffverluste (in elementarer Form stattfänden und das Ammoniak relativ leicht aus dem Boden „verdunste“, wird darauf hingewiesen, daß der genannte Autor Beweise für diese Behauptungen bisher nicht erbracht hat, und es, speziell unter Berücksichtigung der zahlreichen, zum Teil sehr beachtenswerten Angaben in der französischen Literatur auch durchaus nicht wahrscheinlich ist, daß bei normalem Verlauf der Salpeterbildung in der Ackererde irgend erhebliche Verluste an Stickstoff in elementarer Form oder auf dem Wege der Ammoniakverdunstung stattfinden. — Die Denitrifikation wurde vorwiegend aus methodologischen Gründen in den Bereich der Untersuchungen gezogen. Daß sie im Boden entgegen den Behauptungen P. Wagners keine Rolle spielt, haben zahlreiche Untersuchungen gezeigt. Auch im vorliegenden Falle fand in dem mit Erde beimpften Salpeterbodenextrakt ohne Zusatz organischer Substanz keine Denitrifikation statt, vielmehr wurde, trotzdem sich die Flüssigkeit in hoher Schicht befand, der Bodenstickstoff ziemlich kräftig nitrifiziert. Wurden der Lösung die für den Kalkstickstoffversuch angewandten Mengen an Traubenzucker und Asparagin (je 0,1‰) zugesetzt, so fand eine geringe, praktisch bedeutungslose Denitrifikation und ebenfalls eine ansehnliche Nitrifikation in den Versuchskolben statt. In dem Stickstoffassimilationsversuch zeigten sich bei längerer Versuchsdauer nur geringfügige Änderungen. Daß das Bodenextrakt auf die Höhe der Stickstofferten sehr günstig einwirkt, hob ich schon früher hervor<sup>1)</sup>.

#### Ergebnisse der Feldversuche.

Die ganz abnorme Trockenheit des Sommers 1904 hat leider die Ergebnisse der Feldversuche nicht unwesentlich beeinträchtigt. Solange es nicht an Feuchtigkeit im Boden fehlte, wiesen die Pflanzen auf der geschälten Hälfte des Feldes einen sichtbar besseren Stand auf als die auf der nicht geschälten Parzelle. Späterhin aber vertrockneten die Stöcke vorzeitig sehr ungleichmäßig, und zwar auf der geschälten Teilfläche in größerem Umfange, so daß die Kraut- und Knollenerntezahlen kein klares Bild liefern. Leidlich brauchbar erschienen dagegen die Ernteresultate an Gesamtstickstoff, weil gerade bei der Kartoffel die Hauptmenge des Stickstoffs verhältnismäßig früh aufgenommen wird. Dieselben stellen sich in Kilogramm pro Hektar, wie folgt:

	Geerntet an Stickstoff insgesamt		Mehr als ohne Stickstoffdüngung	
	geschält	nicht geschält	geschält	nicht geschält
Ohne Stickstoffdüngung	96,20	86,10	—	—
Gedüngt mit Knochenmehl	104,41	93,41	+ 8,21	+ 7,31
„ „ Kalkstickstoff	116,68	106,45	+ 20,48	+ 20,35
„ „ Ammonsulfat	118,46	107,87	+ 22,26	+ 21,77
„ „ Chilesalpeter	116,13	107,18	+ 19,93	+ 21,08

1) l. c. Bd. XII. p. 462.

Demnach wurde der in der Düngung gegebene Stickstoff (je 30 kg pro Hektar) im Durchschnitt folgendermaßen ausgenutzt:

Knochenmehl	25,87 Proz.	Ammonsulfat	72,40 Proz.
Kalkstickstoff	68,07 „	Chilesalpeter	68,37 „

Auf der geschälten Hälfte des Feldes stellen sich die Erträge an Stickstoff durchweg um ca. 10 kg höher als auf der nicht geschälten Hälfte.

#### Vergleich der im Laboratorium und auf dem Felde erlangten Resultate.

Abgesehen von der Harnstoffzersetzung, für die ein entsprechender Düngungsversuch fehlte, die vielmehr mitgeprüft wurde, um ein Analogon zu der Kalkstickstoffzersetzung zu haben, zeigen die für die übrigen Stickstoffumsetzungen im Laboratorium und auf dem Felde erlangten Resultate eine befriedigende Uebereinstimmung.

Die Intensität der Knochenmehlzersetzung verhielt sich zu derjenigen der Kalkstickstoffspaltung nach den Ergebnissen der Umsetzungsversuche im Monat Mai, der für die Düngerwirkung auf dem Felde die maßgebende Zeit gewesen sein dürfte, wie 41:100. Nach den Ernteergebnissen stellte sich die Stickstoffausnutzung für die beiden Düngemittel auf 38:100. Der Stickstoff des Kalkstickstoffs wurde im April und Mai sehr rasch in Ammoniak übergeführt; auf dem Felde wirkte der Kalkstickstoff dementsprechend ungefähr ebenso wie das Ammoniak. Die Ausnutzung des in Form von schwefelsauren Ammoniaks gegebenen Stickstoffs ist relativ hoch ausgefallen; die Tätigkeit der nitrifizierenden Bakterien war auch bereits im Monat März und April (Anfang dieses Monats wurde das Ammonsulfat ausgestreut) sehr intensiv und die Hauptmenge des Ammoniaks wurde wohl bereits zu dieser Zeit nitrifiziert, so daß die durch die Bodenbearbeitung Ende April herbeigeführte Depression ohne Einfluß blieb. Der Chilesalpeter gelangte nicht zu voller Wirkung, weil er zum Teil zu spät (erst im Juni als Kopfdüngung) gegeben war.

Das Stoppelschälen hatte nach den Resultaten der Umsetzungsversuche weder auf die Knochenmehlzersetzung, noch auf die Kalkstickstoffzersetzung, noch auf die Nitrifikation einen deutlichen Einfluß ausgeübt. Hiermit übereinstimmend sind die Stickstoffwirkungen der entsprechenden Düngemittel auf beiden Feldhälften ungefähr die gleichen gewesen. Die geringen Differenzen liegen innerhalb der Fehlergrenzen. Deutlich fördernd hatte das Stoppelschälen auf die Stickstoffassimilation eingewirkt, und hierdurch dürfte wohl der auf der geschälten Hälfte des Feldes durchweg höhere Stickstoffertrag seine Erklärung finden. Da, soweit die Beobachtungen reichen, die Ammoniakbildung und Nitrifikation durch die verschiedene Bodenbearbeitung nicht beeinflußt wurden, so kann, wie mir scheint, die Ertragssteigerung in diesem Falle nicht so erklärt werden, wie dies Pfeiffer mit allen angeblich auf Stickstoffassimilation beruhenden Resultaten tun will, indem er diese nämlich auf eine stärkere Ausnutzung des im Boden vorhandenen Stickstoffvorrats zurückführt. Naturgemäß gestattet die beschränkte Zahl von Beobachtungen, die noch dazu zum Teil durch abnorme Witterung in ihrer Brauchbarkeit beeinflußt wurden, keine weitgehenden Folgerungen. Jedenfalls geht aber aus den Versuchen so viel hervor, daß man auf dem eingeschlagenen Wege (Kombination von Umsetzungs- und Feldversuchen)

mit der Zeit zu einem sicheren Urteil über die praktische Bedeutung des in Rede stehenden Prozesses wird gelangen können, wie es, soweit ich sehe, auf anderem Wege nicht erreichbar zu sein scheint.

### Die an den Umsetzungen beteiligten Bakterienarten.

Ueber die im vorliegenden Falle beteiligten Bakterien der Kalkstickstoffzersetzung, Harnstoffspaltung, Denitrifikation, Salpeterassimilation und Stickstoffbindung habe ich in früher in diesem Blatte (Bd. XIV) veröffentlichten Abhandlungen das Bemerkenswerte mitgeteilt. In dem betreffenden Abschnitt der in Rede stehenden Arbeit finden sich noch einige Versuche über die Einflüsse von Temperatur und Lüftung, die zur Erklärung der Resultate der mit Erde durchgeführten Umsetzungsversuche dienen, die ich aber hier glaube übergehen zu dürfen. An dieser Stelle sei nur die Knochenmehlzersetzung noch kurz besprochen. Isoliert wurden: *Bac. mycoides*, *Bact. vulgare*, *putidum*, *fluorescens*, *coli*, *Micrococcus candicans*. Kräftig ammoniakbildend wirkten nur die beiden erstgenannten Arten. Innerhalb 3 Wochen führten sie bei Zimmertemperatur 39 bzw. 28 Proz. des Knochenmehlstickstoffs in Ammoniak über. So gut wie unwirksam waren die drei letztgenannten Species. Im ganzen verhielten sich die isolierten sowie einige unserer Sammlung entnommene Stämme hinsichtlich ihrer Fähigkeit, Knochenmehlstickstoff in Ammoniak zu verwandeln, völlig analog den von Stoklasa geprüften. Nur das *Bact. coli* differierte erheblich. Kombinationen verschiedener Arten gaben nur Durchschnittswerte. In 1-proz. Peptonlösung verhielten sich die Reinkulturen ganz anders als in der Knochenmehllösung. Stark ammoniakbildend wirkten *Bact. putidum*, *fluorescens* und *coli*, schwächer *Bac. mycoides* und *Bact. vulgare*. Gleichwohl sprechen diese Ergebnisse nicht ohne weiteres zu Ungunsten des von Remy vorgeschlagenen Verfahrens, das Ammoniakbildungsvermögen der Ackererden unter Verwendung von Peptonlösung festzustellen, denn die in erster Linie in Betracht kommenden Resultate der mit Erde eingeleiteten Umsetzungsversuche zeigten eine verhältnismäßig gute Uebereinstimmung. Diese Frage ist weiter zu prüfen.

Die an der Nitrifikation beteiligten Organismen wurden nicht isoliert, da meines Erachtens ein Fortschritt auf diesem Gebiet nur von sehr eingehenden, speziellen, nicht aber von beiläufigen Untersuchungen erwartet werden kann. Wenn neuerdings von verschiedenen Autoren, wie früher von Heräus und dessen Zeitgenossen, auf Grund durchaus unzulänglicher Beobachtungen oder gar ohne irgend welchen Beleg behauptet wird, daß die Befähigung zur Salpeterbildung unter den Mikroorganismen viel allgemeiner sein soll, als es durch Winogradskys mühevollen Untersuchungen festgestellt wurde, so scheint mir aus solcher Arbeitsweise eine Förderung der bakteriologischen Wissenschaft nicht zu resultieren.

Daß das Aufbewahren der mit Erde beimpften Lösungen bei verschiedener Temperatur offenbar irreführende Resultate liefern kann, ergab sich mit besonderer Deutlichkeit aus einigen Denitrifikationsversuchen. Die Stickstoffverluste betrugen im Glycerin-Salpeter-Bodenextrakt in mg pro 50 ccm

	bei 10—12°	20—22°	30—32°
bei der Erdimpfung	5,04	4,20	1,82
geimpft mit <i>Bact. fluorescens</i>	4,64	4,64	4,92
Zweite Abt. Bd. XV.			28

Daß in den mit Erde versetzten Kolben die Stickstoffverluste bei niedriger Temperatur größer sind als bei höherer, erklärt sich aus der im letzteren Falle verhältnismäßig bedeutend stärkeren Salpeterassimilation. Es verschwand die Diphenylaminreaktion

	bei 10—12°	20—22°	30—32°
durch Salpeterassimilation (Bact. radiobacter) nach	28	14	8 Tagen
durch Denitrifikation (Bact. fluorescens) nach	9	8	5 „

### Schluß.

„Aus den vorliegenden Untersuchungen ergibt sich meines Erachtens mit zweifelloser Deutlichkeit, daß es möglich ist, durch Impfen zweckentsprechend gewählter Lösungen mit 10 Proz. Erde wertvolle Anhaltspunkte hinsichtlich des Verlaufs der durch Mikroorganismen in der Ackererde veranlaßten Umsetzungen zu gewinnen. Bei der Anwendung dieser Methode hat jede der bisher geprüften Umsetzungen einen charakteristischen Verlauf erkennen lassen, an dessen Gestaltung sich die Einflüsse von Jahreszeit (Bodentemperatur), Witterung und Bodenbearbeitung je nach den physiologischen Eigentümlichkeiten der betreffenden Bakteriengruppen in mehr oder minder scharf hervortretender Weise erkennen ließen. Die Ergebnisse der Umsetzungsversuche fanden, soweit in dieser Richtung Feststellungen möglich waren, durch die Resultate des entsprechenden Feldversuches sowie durch die bakteriologische Prüfung ihre Bestätigung; und es darf gesagt werden, daß es bei verstärkter Versuchsanstellung in dieser Richtung mit der Zeit möglich werden dürfte, einerseits durchgreifende Gesetzmäßigkeiten aufzufinden für den Einfluß, den die hauptsächlich in Betracht kommenden Faktoren auf Richtung und Intensität des Verlaufs der landwirtschaftlich wichtigen Umsetzungen in der Ackererde ausüben, andererseits Klarheit zu gewinnen über die durch biologische Ursachen bedingten Differenzen der verschiedenen Böden. Hinsichtlich des letzteren Punktes scheint mir allerdings zunächst einige Reserve geboten, da, wie aus der vorliegenden Arbeit hervorgeht, namentlich bei gewissen Umsetzungen auf ein und demselben Boden bedeutende Unterschiede in der Intensität vorkommen und sich somit bei vergleichenden Untersuchungen verschiedener Böden Differenzen herausstellen können, die weniger durch den eigentlichen biologischen Charakter der betreffenden Erden als vielmehr durch den augenblicklichen Zustand, in dem sich der Bakterienbestand zur Zeit der Probenahme befand, hervorgerufen wurden.

Wie dargelegt, hat sich das Extrakt, das aus dem zur Untersuchung herangezogenen Boden bereitet wurde, als Grundlage für die je nach den verschiedenen Zwecken erforderlichen Lösungen gut bewährt, und es dürfte eine weitere Prüfung desselben wohl angezeigt erscheinen, da speziell bei der Vergleichung verschiedener Böden auf diese Weise vielleicht am zweckmäßigsten dem jeweils vorhandenen chemischen Charakter der Erde in gewissem Grade Rechnung getragen wird. Was im übrigen die Methodik anlangt, so könnte eine Vereinfachung des Arbeitsverfahrens insofern stattfinden, als es ratsam erscheint, die Versuche in Lösungen nicht über einen Monat hinaus auszudehnen. Es hat sich gezeigt, daß nur bei einer sich zwischen einer und vier Wochen haltenden Versuchsdauer die spezifischen Unterschiede deutlich wahrzunehmen sind; die Entscheidung spezieller Fragen, wie die nach der Ursache der im späteren Verlaufe der Fäulnis auftretenden Stickstoffverluste, kann dagegen naturgemäß nicht durch lange fortgeführte Versuche mit dem in

den verwendeten Erdproben enthaltenen komplizierten Bakteriengemischen, sondern nur durch bakteriologische Spezialuntersuchungen erledigt werden.

Der bakteriologischen Forschung erwachsen überdies insofern wichtige Aufgaben, als es noch in mancher Richtung eingehenderer Ermittlungen bedarf über die zur Anhäufung der an den verschiedenen, im Boden sich vollziehenden Umsetzungen beteiligten Mikroorganismen, sowie über diese Lebewesen selbst. Wenn es auch als sehr erwünscht hingestellt werden muß, die Ergebnisse der Umsetzungsversuche in Lösungen nicht nur durch Versuche auf dem Felde, sondern auch durch Feststellung der jeweils in hervorragendem Grade an der betreffenden Umsetzung beteiligten Bakterienarten sicherzustellen, so muß doch andererseits gesagt werden, daß im Hinblick auf die nicht unbeträchtliche Unsicherheit und Unvollkommenheit, die betreffs der landwirtschaftlich-bakteriologischen Untersuchungsmethoden gegenwärtig noch besteht, auch hier vor allem eingehende Sonderarbeiten dringend erforderlich erscheinen.“

*Nachdruck verboten.*

## Die Phytophthorafäule beim Kernobst.

Von Dr. A. Osterwalder,

Assistenten an der Schweizerischen Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil. (Abteilung für Pflanzenphysiologie und Pflanzenpathologie.)

Ende Juni 1904, kurz nach einem heftigen Platzregen, der von schwachem Hagelschlag und starkem Sturm begleitet war, lagen unter den horizontalen, niederen Cordons von Charlamowsky im Versuchsgarten unserer Anstalt zahlreiche abgefallene Früchte, die in kurzer Zeit in Fäulnis übergingen. Der frühen Jahreszeit und des geringen Alters der Äpfel wegen schenken wir der letzteren Erscheinung besondere Aufmerksamkeit, obwohl wir als Ursache des Fäulnisprozesses *Sclerotinia fructigena* vermuteten, welcher Pilz ja schon frühzeitig unreifes Obst befällt. Als dann aber nirgends die bekannten Konidienpolster zum Vorschein kamen, unterwarfen wir das faulende Obst dem mikroskopischen Studium, wobei sich zunächst herausstellte, daß die Faulstellen von einem nicht septierten Mycelium durchwuchert waren. Im feuchten Raum, z. B. unter einer mit feuchtem Filtrierpapier ausgeschlagenen Glasschale, zeigten sich nun nicht die Sporenträger von *Mucor*, von welcher Gattung allein unter den bisher bekannten Fäulnispilzen mit unseptiertem Mycelium Vertreter bekannt sind. Dagegen wuchsen aus den ganz faulen Äpfeln, soviel wir beobachten konnten, vornehmlich aus den Lenticellen, weiße Mycelflöckchen, in ähnlicher Weise, wie wir dies seinerzeit bei der *Fusarium*-Fäule des Kernobstes von *Fusarium putrefaciens* gemeldet haben<sup>1)</sup>. Das aus den Äpfeln wachsende Mycel ist ebenfalls einzellig und zeichnet sich durch eine große Anzahl Oogonien und Oosporen aus; erstere sind farblos, rund, erreichen einen Durchmesser von durchschnittlich 24  $\mu$ . Die Oosporen sind braungelb und glatthäutig. Neben diesen sogenannten extramatrikalen Oogonien werden im faulen Fruchtfleisch auch intramatrikale gebildet, so namentlich im subepidermalen Gewebe und in der Epidermis, in der das Mycel an verschiedenen Stellen ein üppiges Wachstum

1) Vergl. dieses Centralblatt. Bd. XIII. 1904. p. 207.

zeigt. Die Mycelstränge reihen sich hier bündelweise aneinander und sprengen die Außenmembran der Oberhaut ab. So treten auf der Oberfläche, sporadisch verteilt, blasig aufgetriebene Stellen auf, die infolge Durchscheinens des Mycels silberweiß erscheinen. In diesen Mycelwucherungen in der Epidermis, die an die unter der Oberhaut wachsenden stromaartigen Gebilde bei *Fusarium putrefaciens* und *Sclerotinia fructigena* erinnern, tritt reichliche Oogonienbildung ein. Weniger zahlreich sind die Oogonien und Oosporen im weißen Luftmycel verbreitet, das sich hier und da auch im Kernhaus faulender Früchte bildet und sich durch gleichmäßige Dicke der Mycelstränge auszeichnet.

Legen wir einen faulen Apfel in ein Glas Wasser, so wächst schon innert 24 Stunden ein üppiges Mycel aus der Oberhaut, das neben Oogonien und Oosporen auch reichlich Konidien bildet, von denen vielleicht einzelne im Innern schon Zoosporen beherbergen. Die Außenmembran der Oberhaut fauler Aepfel kann als feines Häutchen leicht gelöst werden und läßt bei der Oberflächenansicht erkennen, wie das Mycel, untermischt mit zahlreichen Konidienträgern, büschelweise aus derselben tritt. Die Konidiensporen lösen sich bei der geringsten Berührung und stehen nach der Präparation meist nicht mehr in Verbindung mit den Konidienträgern. Hängen sie noch mit denselben zusammen, so können wir eine einzelne Konidienspore an einem Träger beobachten, aber auch deren 2–4. In letzterem Falle sind die Sporen derart angeordnet, daß unterhalb der Ansatzstelle einer Konidie wieder ein neuer Konidienträger mit einer Konidie abzweigt. Die Konidien, ihr Inhalt, die Zoosporen, dann auch die Stellung der Sporen an den Konidienträgern ließen auf die Gattung *Phytophthora* schließen. Die Konidienträger sind fadenförmig, bedeutend dünner als die Mycelstränge, meist ohne Anschwellung unterhalb der Ansatzstelle der Konidien. Letztere sodann fallen durch ihre Variationsfähigkeit in Form und Größe auf, so daß der Speciesname *variabilis* vielleicht zutreffender gewesen wäre als der heute allgemein angenommene. Was zunächst die Form anbetrifft, so sind viele Sporen citronenförmig, andere mehr birnförmig, elliptisch und kugelig. Die große Mehrzahl ist symmetrisch; doch haben wir auch einseitig gebogene beobachtet. Ebenso große Unterschiede zeigen sich in den Größenverhältnissen. Wir maßen Konidien von 17,08  $\mu$  Länge und 14,64  $\mu$  größtem Breitendurchmesser bis 119,56  $\mu$  Länge und 24,4  $\mu$  größter Breite. Der Sporenhalt zerfällt namentlich bei häufigem Wasserwechsel leicht in Zoosporen, die dann aus der an Stelle der scheitelständigen Papille entstehenden Oeffnung treten und schwärmen oder aber schon in der Konidie keimen, wie wir dies häufig beobachteten. Die Zahl der Zoosporen hängt natürlich von der Größe der Konidien ab. Kleine Konidien enthalten nur 2, größere deren 20–30. Wenn auch verschiedene Merkmale, wie wir später sehen werden, nicht ganz übereinstimmen mit den bisher beschriebenen von *Phytophthora omnivora* De Bary, so halten wir doch, namentlich auf Grund der Beschaffenheit der Konidiensporen, den Pilz, der in den beschriebenen faulen Aepfeln stets auftritt, für identisch mit der genannten *Phytophthora*. Ausschlaggebend für diese Species ist ja namentlich die abnorme Größe der Konidien, das Fehlen der Verdickung unterhalb der Ansatzstelle der Konidiensporen, dann aber besonders die extramatrikalen Oogonien, die wir auf der Oberhaut der faulen Früchte gefunden.

Es mag vielleicht auffallen, daß nach De Bary<sup>1)</sup> die größten Konidien  $93\ \mu$  lang sind, während wir solche von  $119\ \mu$  Länge maßen. Die große Variationsfähigkeit der Sporen kann solche Unterschiede erklären.

*Phytophthora omnivora* ist schon wiederholt als Parasit konstatiert worden. So erwähnt De Bary in seiner bereits zitierten Arbeit ein durch diesen Pilz verursachtes Absterben von erwachsenen Pflanzen von *Cleome violacea*, *Alonsoa caudialata*, *Schizanthus pinnatus*, *Gilia capitata*, *Fagopyrum marginatum* und *tataricum* und besonders von *Clarkia elegans*. Durch künstliche Infektion gelang es sodann De Bary, den Pilz auch auf Keimpflanzen von *Lepidium sativum*, *Oenothera biennis*, *Salpiglossis sinuata*, sowie auf laubtragende Zweige von *Epilobium roseum* zu übertragen, die *Phytophthora* bei ihrer Ausbreitung zerstörte. Schenk konstatierte auf verschiedenen *Sempervivum*-Arten eine *Peronospora Sempervivi*, welche sich nach den Infektionsversuchen De Barys, bei denen es dem genannten Forscher gelang, *Phytophthora omnivora* auf *Sempervivum* zu übertragen und die nämlichen Krankheitserscheinungen hervorzurufen, als identisch mit *Phytophthora omnivora* erwies. Cohn und Lebert fanden sodann in faulen Cactus-Stämmen (*Cereus giganteus* und *Melocactus nigrotomentosus*) eine *Peronospora Cactorum*, welche De Bary ebenfalls auf Grund von Infektionsversuchen und eines von Cohn mitgeteilten Präparates für *Phyt. omnivora* erklärte. Am bekanntesten ist genannte Species wohl durch Hartigs Abhandlung über den Buchenkeimlingspilz<sup>2)</sup> geworden, welchen der genannte Forscher zuerst *Phytophthora Fagi* nannte. Später schloß sich Hartig der Ansicht De Barys an, wonach *Phyt. Fagi* Hartig und *Phyt. omnivora* De Bary dieselbe Species sein sollen und acceptierte den von De Bary erteilten Speciesnamen. Besonders in regenreichen Frühjahren tritt *Phytophthora omnivora* in Saatbeeten von Buchenkeimlingen oft in verheerender Weise auf, indem er die Keimlinge entweder schon im Boden oder an dem Stengel unter oder oberhalb der Samenlappen oder diese selbst befällt oder zerstört. Auch an Sämlingen von *Pinus*, *Picea* und *Larix* ist der nämliche Pilz gefunden worden. Wir haben nicht unterlassen, unseren Fäulnispilz auf Buchenkeimlinge zu übertragen. Letztere standen im Wald und waren allerdings in der Entwicklung schon ziemlich weit vorgeschritten. Die ersten Laubblätter hatten sich bereits gebildet, die Kotyledonen waren aber noch grün. Bei den verwundeten Keimblättern trat nach einigen Tagen Bräunung ein; dann begannen meine Ferien, welche mich verhinderten, den Versuch weiter zu verfolgen, wie es wünschenswert gewesen wäre. Bei den Pflanzen, die in einem Topf Erde unter einer feucht gehaltenen Glasglocke standen, trat Schimmelbildung ein; immerhin konnten wir in den verwundeten und erkrankten Kotyledonen Oosporen von der Größe derjenigen von *Phytophthora omnivora* nachweisen. Im Herbst 1904 waren sodann nirgends Bucheckern erhältlich, ebenso nicht im Sommer 1905. Wir benutzten deshalb zu weiteren Infektionsversuchen junge Blattrosetten von *Sempervivum tectorum*. An den verwundeten Blättern trat Bräunung und Erkrankung ein, wenn auch nicht in dem Grade, wie wir erwartet

1) De Bary, Zur Kenntnis der Peronosporaeen. (Bot. Zeitung. 1881. p. 521 u. ff.)

2) Hartig, Der Buchenkeimlingspilz, *Phytophthora* (*Peronospora*) *Fagi* m. (Untersuchungen aus dem forstbotanischen Institut zu München. 1880. p. 33 u. ff.)

hatten. Schon nach wenigen Tagen wuchsen aus den Spaltöffnungen der Oberhaut Büschel von Konidienträgern. Im Innern des Blattgewebes, besonders im subepidermalen Gewebe, sowie in der Epidermis selbst hatten sich Oosporen gebildet. Damit ist wohl die Identität von unserem Fäulnispilz mit *Phytophthora Sempervivi*, infolgedessen auch mit *Phytophthora omnivora* bewiesen.

Daß *Phytophthora omnivora* in den Obstfrüchten eine parasitische Lebensweise führt, haben Infektionsversuche bewiesen, die wir mit aus dem Innern fauler Früchte geschnittenen Stückchen Fruchtfleisches, mit zoosporenhaltigen Konidien, sowie mit Mycel aus Reinkulturen des Pilzes an fast reifen Aepfeln der Sorte Charlamowsky und an noch grünen, unreifen Hofratsbirnen ausführten. Die Früchte, von denen wir einzelne leicht verletzten, andere intakt ließen, blieben im feuchten Raum aufbewahrt. Innerhalb 8 Tagen waren die verletzten Aepfel und Birnen in Fäulnis übergegangen. Bei den Aepfeln hatten sich in der Vertiefung der Stielpartie zahlreiche Oogonien gebildet. Die intakt gelassenen Früchte blieben gesund. Unsere *Phytophthora* schließt sich also in dieser Beziehung den anderen Fäulnispilzen an, die ebenfalls nur durch Wunden in die Früchte einzudringen vermögen. Diese Tatsache scheint zunächst mit den Beobachtungen Hartigs und De Barys im Widerspruch zu stehen, indem nach diesen beiden Forschern die Keimschläuche der Schwärmsporen auch in gesundes, unverletztes Gewebe einzudringen vermögen. So wachsen nach Hartig die Keimschläuche auf der Oberfläche der jungen Buchenpflänzchen und dringen in der Regel nur da in die noch nicht kutikularisierte Epidermis ein, wo zwei Epidermiszellen zusammenstoßen. „Die Laubblätter sind nur in der ersten Jugend, solange die Oberhaut noch nicht zu sehr kutikularisiert ist, infektiösfähig.“ Hartig gelang es nicht, ältere Buchenblätter im Freien durch Konidien zu infizieren. Erinnern wir nun daran, daß schon in ganz jungen Früchten die Außenmembranen der Epidermiszellen etwas dicker als die übrigen und kutinisiert sind, und daß mit zunehmendem Alter die Verdickung noch bedeutend zunimmt, so verstehen wir auch, warum *Phytophthora omnivora*, die ja auch nicht in ältere Laubblätter einzudringen vermag, bei Obstfrüchten nur als Wundparasit auftreten kann. Es schien zwar oft, als ob viele der im Freien gefundenen Früchte mit jungen Infektionsstellen nicht verwundet gewesen wären; auch noch an den Zweigen hängende Früchte, wie Charlamowsky und diverse Birnensorten, waren wiederholt von der *Phytophthora*-Fäule ergriffen worden, ohne daß man mit bloßem Auge eine Verletzung hätte entdecken können. Damit ist natürlich nicht gesagt, daß der Pilz nicht doch durch eine mikroskopisch kleine Wunde, die bei eingetretener Fäulnis eben nur schwer zu bestimmen ist, eingedrungen ist.

Hartig bemerkt in seiner erwähnten Abhandlung, daß *Phytophthora Fagi*, eben unser Fäulnispilz, nicht nur in dem bereits verfärbten Teil, sondern auch darüber hinaus in dem scheinbar noch völlig gesunden Parenchym sich ausbreite. Dieselbe Beobachtung haben wir bei unseren *phytophthorafaulen* Früchten gemacht, wo das Mycel mindestens 1—2 mm der Bräunung vorauswuchert. Der Pilz scheint mehr durch Nahrungsentzug als durch Giftigkeit zu wirken. Daß das Mycel innerhalb des Gewebes von mannigfach wechselnder Form und Dicke ist, indem es sich offenbar dem zwischen den Zellen vorhandenen Raum anpaßt, stimmt ebenfalls mit der Mitteilung Hartigs überein, weniger



dagegen die inter- und intracelluläre Lebensweise, das nur vereinzelte Vorkommen von Haustorien, sofern man die kurzen Verzweigungen, die vom Mycel ins Inneré der Zellen hier und da ragen, so nennen will, und das Fehlen der Septierung des Mycels. Die Mitteilung Hartigs, daß beim Buchenkeimlingspilz zahlreiche kleine, runde Saugwarzen seitlich den Hyphen entspringen und in die Parenchymzellen eindringen, sowie, daß reiche Septierung des Myceliums Regel sei, ließ in uns einige Zeit Zweifel an der Identität der beiden Pilze aufsteigen. Da aber auch De Bary bemerkt, daß die Myceliumschläuche anfangs querwandlos seien, daß sie durch Perforation der Membranen auch ins Zellinnere eindringen, und von Haustorien ebenfalls nichts erwähnt, so müssen wir wohl annehmen, daß die konstatierten Unterschiede mit dem Nährmedium zusammenhängen. Sagt ja auch Hartig, daß das im Wasser gewachsene Mycel von *Phytophthora Fagi* ein reich verästeltes, sparsam septiertes, gleichmäßig starkes sei und keine Haustorien besitze. Aehnliche Verhältnisse, wie bei den Wasserkulturen, finden wir in dem saftigen, wasserreichen Fruchtfleisch des Obstes.

Bei den Äpfeln hat *Phytophthora omnivora* 1904 und 1905 nicht gerade nennenswerten Schaden angerichtet; meistens waren es doch nur gefallene unreife Äpfel, die in Fäulnis übergingen und zudem nur solche gewisser Sorten, so 1904 diejenigen von Charlamowsky, 1905 namentlich diejenigen von Transparente de Cronzel. Charlamowsky hatte in diesem Jahre nur spärlich geblüht und nur vereinzelte Früchte angesetzt. Bei den horizontalen niederen Cordons von Charlamowsky, Hofratsbirne etc. ist die *Phytophthora*-Fäule aber auch wiederholt an Früchten aufgetreten, die an den Zweigen tief herunterhingen und das Erdreich beinahe berührten. Zweifelsohne überwintert der Pilz in den Oosporen im Erdreich, von wo aus dann die Infektionen erfolgen. Dafür spricht die Tatsache, daß nur die am Boden liegenden Früchte, sowie die am Baum hängenden, die mit der Erde zeitweise in Berührung kommen, von der Fäulnis befallen werden. Wiederholt haben wir bei Äpfeln und Birnen beobachten können, wie herunterhängende Früchte da, wo sie das Erdreich berührten, von *Phytophthora* infiziert wurden. Daß im Sommer 1904 die Fäule bei Charlamowsky ganz besonders stark auftrat, wird wohl von den Hagelwunden herrühren, die dem Pilz den Eintritt erleichterten. Auch unter den Birnen scheint der Pilz gewisse Sorten besonders zu bevorzugen, so vor allem Six, die Hofratsbirne, Diels Butterbirne, Vereins Dechants Birne, Neue von Poiteau und Bergamotte d'Esperine. Speziell bei Six und der Hofratsbirne ist der Ertrag im Versuchsgarten durch *Phytophthora*, die sehr häufig bei den niederen horizontalen Cordons an den noch hängenden älteren Früchten aufgetreten, sehr geschmälert worden. Von Horgen am Zürichsee sind uns im Herbst 1904 phytophthorafaule Birnen der Sorte Bergamotte d'Esperine zugeschickt worden mit dem Bemerkten, daß es Jahrgänge gegeben habe, wo sämtliche erkrankten. Ob hier immer *Phytophthora*-Fäule im Spiel war, entzieht sich unserem Urteil. Bei verschiedenen Birnsorten, wie Six, Hofratsbirne, Vereins Dechants Birne kennzeichnet sich die beschriebene Fäule dadurch, daß sie zunächst hauptsächlich den äußeren Teil der Frucht ergreift und verändert. Wir haben wiederholt Birnen angetroffen, die außen ganz gebräunt waren, infolgedessen ganz faul erschienen, während ein Längsschnitt erkennen ließ, daß die Bräunung und eigentliche Fäule nur  $\frac{1}{2}$ —1 cm tief vorgedrungen war. Die phytophthorafaulen

Aepfel zeichnen sich durch eine helle Bräunung des Fruchtfleisches aus, während z. B. moniliafaule Früchte mehr dunkelbraun sich färben. Phytophthorafaule Aepfel wie Birnen werden dann aber leicht an der Oosporen- event. auch Konidienbildung erkannt nach einem kürzeren oder längeren Aufenthalt im feuchten Raum. Beim Lagerobst haben wir den beschriebenen Pilz nie angetroffen. Nach reichen Niederschlagsmengen nimmt die Zahl der phytophthorafaulen Früchte zu, während in großen Trockenperioden diese Fäule verschwindet.

Nach Hartig tritt der Buchenkeimlingspilz an den Buchensämlingen schon Mitte Mai auf; die Oosporen sind also schon frühzeitig keimfähig; daß die Phytophthora-Fäule erst Ende Juni und anfangs Juli auftritt, muß seinen Grund darin haben, daß die Früchte doch erst von einem gewissen Reifestadium an infektionsfähig werden.

Zum Schlusse mag noch die Frage berührt werden, ob die oben beschriebene Phytophthora-Fäule des Kernobstes mit der Phytophthora-Krankheit der Buchenkeimlinge im Zusammenhang stehe, so daß vielleicht durch die Phytophthora-Fäule die Buchenkeimlingskrankheit begünstigt wird und umgekehrt. Ohne viele Mühe ist es uns gelungen, auch an faulendem Obst unter hochstämmigen Feldobstbäumen *Phytophthora omnivora* nachzuweisen. Eine Infektion von Buchensaatzfeldern durch Erde oder Obst aus benachbarten mit Obstbäumen bepflanzten Aeckern und Wiesen ist also leicht denkbar. Von Interesse ist für uns in dieser Hinsicht folgende Stelle aus einem Brief des Oberförsters Eberts zu Castellaun (Regierungsbezirk Coblenz) an Hartig: „Der Umstand, daß die Krankheit sich bis jetzt nur in solchen Cämpen zeigt, zu denen man durch Feld oder Wiesen, welche in der Nähe liegen, gelangt, dagegen nicht in Cämpen auftritt, welche nur durch lange Wanderungen durch den Wald erreicht werden können, sowie endlich die Tatsache, daß sich die Krankheit in der nächsten Nähe von Castellaun nur an einem von Wiesen- und Feldbesitzern stark betretenen Fußpfade zeigt, führt zu der Vermutung der Einschleppung des Pilzes von außen, namentlich von Feld- und Wiesenpflanzen her“. Hartig bemerkt dazu: „Nachdem De Bary den Pilz auch auf anuellen Pflanzen (siehe oben) beobachtet hat, gewinnt diese Vermutung sehr an Wahrscheinlichkeit“. Unsere Mitteilung steht ebenfalls in Uebereinstimmung mit der Vermutung des Oberförsters Eberts.

Wädensweil, den 10. August 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Bekämpfung der Mosaikkrankheit der Tabakpflanze.

Von Hjalmar Jensen, Buitenzorg, Java.

Die meisten Untersuchungen über die Mosaikkrankheit der Tabakpflanze sind von guten Ratschlägen über die Bekämpfung der Krankheit begleitet. So hat Adolf Mayer (1) eine Erneuerung der Erde in den Mistbeeten empfohlen, in welche der Tabak gesät und die jungen Pflanzen gezogen werden, ferner Fruchtwechsel auf den Tabaksplantagen, Beseitigung der im Felde stehenden kranken Pflanzen und Düngung mit Stoffen, die womöglich keine niederen Organismen in sich einschließen, z. B. Torfklein und Kunstdünger. Ebenso empfiehlt Gontière (2) für die Saatbeete die Benutzung von Land, das noch keinen Tabak getragen

hat, in Verbindung mit einer Beizung der Samen mit Kupfersulfatlösung. Aehnliche Anschauungen, daß die Krankheit von einer Infektion der Saatbeete herrührt, führen verschiedene andere Forscher dazu, eine Erneuerung, sogar eine Sterilisation [Marchal (3)] oder eine mehrmalige Umarbeitung der Erde [Raciborski (4)] auf den Pепенitern zu empfehlen.

Dasselbe Mittel (Erneuerung oder Sterilisation der Erde in den Saatbeeten) empfiehlt Woods (5), indem er die nach seiner Anschauung in den Saatbeeten anwesenden und die Krankheit hervorrufenden Oxydasen dadurch zerstören will. Auch ein vorsichtiges Anpflanzen der jungen Pflanzen, ohne Beschädigung der Wurzeln, soll nach Woods der Krankheit vorbeugen. Wie ein solches Auspflanzen möglich sei, gibt Verf. leider nicht an.

Einen günstigen Einfluß schreiben Sturgis (6) und Thaxter (7) einer Düngung mit Kalk und der Kultur in künstlichem Schatten zu; indem sie davon ausgehen, daß die Krankheit eine physiologische sei, durch ungünstige Bodenbedingungen und zuviel Sonnenschein verursacht.

Koning (8) meint, eine gute Wirkung durch Desinfektion der Erde auf dem Felde mit 10 hl ungelöschtem Kalk pro Hektar erreichen zu können; er hat nicht untersucht, ob der Boden sich vielleicht so leicht desinfizieren läßt. Uebrigens empfiehlt er auch eine Düngung mit Kainit und Thomasphosphat.

Um die Infektion zu verhindern, will Hunger (9) die auf dem Felde überbleibenden Tabakstöcke verbrennen, und Beilert (10) empfiehlt (für Versuchsfelder) eine Umgebung mit kleinen Pfaden.

Die Empfehlung der schon erwähnten Mittel resultiert immer aus den Untersuchungen über die Natur der Mosaikkrankheit. Aber ziemlich unabhängig von dieser sind die Versuche, durch Saatelektion eine widerstandsfähige Rasse zu kultivieren. Es ist in dieser Richtung gleichgültig, ob die Krankheit durch ein gewöhnliches Bakterium, durch ein ultrakleines Bakterium, durch ein Kontagium vivum fluidum, durch physiologische Störungen, durch besondere klimatologische Verhältnisse oder irgend etwas anderes verursacht wird; in jedem Falle ist es erlaubt, auf eine erfolgreiche Bekämpfung der Krankheit auf diesem Wege zu hoffen.

Leider sind alle diesbezüglichen Versuche wenig einwandfrei, und da die meinigen ziemlich stark abweichen von einigen neuerdings durch Bouyges und Perreau (11) veröffentlichten, sei es mir erlaubt, über die bisher angestellten Versuche eine kritische Uebersicht zu geben.

Um einwandfreie Schlußfolgerungen aus den Versuchen ziehen zu können, müssen folgende Versuchsbedingungen unter allen Umständen in Betracht gezogen werden: 1) Das Saatgut muß von ganz bestimmten Pflanzen, mit absolut sicherer Ausschließung von Fremdbestäubung, gewonnen werden. 2) Solches Saatgut darf nicht allein von mosaikkranken Pflanzen, sondern muß auch — als durchaus notwendige Kontrolle — von absolut mosaikfreien Pflanzen genommen werden. 3) Die Saat von beiden muß ganz gleich behandelt werden, und die Pflänzlinge müssen unter denselben Bedingungen, z. B. am selben Tag ausgepflanzt werden. 4) Diese Bedingungen müssen von solcher Art sein, daß die Krankheit dadurch begünstigt wird. 5) Nach der Publikation von Johannsen (12) kommt noch eine Versuchsbedingung in Betracht, indem die Elternpflanzen nicht von derselben Familie sein dürfen.

Leider entspricht keiner der Versuche diesen sämtlichen Bedingungen,

weder die durch Sturgis (6) 1898, Iwanowski (13) 1903, Hunger (9) 1903, Bouyges et Perreau (11) 1904, noch die von mir selbst angestellten.

Erstens Sturgis: Er schreibt (l. c. p. 247): I secured from the seedbeds . . . . twenty seedlings showing calico (= Mosaikkrankheit) and from thee same bed, twenty apparently healthy seedlings. These were . . . . set in two parallel rows in the garden. . . . With one exception, all of these forty plants were badly calicoed within six weeks. The exception was one of the originally healthy plants. . . . most of the plants flowered and ripened an abundance of seed. This seed was . . . . sown in flats in the green-house. Of the hundreds of seedlings . . . . thus raised not a single one showed a sign of calico in the flats. Thirty seedlings were transplanted and set in a row in the Station garden . . . . All of the plants . . . . showed great vigor and remained perfectly healthy. Meantime, from the same lot of seedlings, a doren were sent to Mr. Ackley, who set them in a warm coruer near the barn . . . . These also failed to show any sign of calico . . . .

Es ist bei diesem Versuche auffallend, daß von seinen 20 Kontrollpflanzen, die als solche hätten sämtlich mosaikfrei bleiben müssen, nur eine einzige gesund geblieben ist; wo ist also ein Vergleich möglich zwischen den zwei verschiedenen (?) Sorten Saatgut? Zweitens ist es auffallend, daß keine von den Pflanzen der 2. Generation die Krankheit zeigte. Aber sind denn überhaupt die Bedingungen für die Krankheit vorhanden gewesen? Ferner ist nicht sicher zu ersehen, ob nur Selbstbefruchtung stattgefunden hat, und auch nicht, ob die Samen von den verschiedenen Versuchspflanzen getrennt gehalten worden sind. Es muß jedoch bemerkt werden, daß Sturgis mit seinen Versuchen nur beabsichtigte, die Uebertragung nur durch das Saatgut, aber nicht die Erblichkeit der Krankheit im weiteren Sinne zu untersuchen. Es scheint mir zweifelhaft, ob er aus seinen Versuchen die Schlußfolgerung ziehen kann, die er ausdrückt: it would seem apparent, therefore, that calico is not communicable through the seed.

Iwanowski hat von einer kranken Pflanze, die er, um Kreuzbefruchtung zu verhindern, von den anderen Pflanzen isoliert und künstlich mit eigenem Pollen bestäubt hatte, Saat gewonnen. Zwischen den aus dieser Saat gewonnenen 100 Pflanzen befand sich keine einzige kranke. Iwanowski meint, daß die kranken Samen nicht ausgekeimt haben, und nur die gesunden sich entwickelten. Für unsere Untersuchung aber, ob die Krankheit erblich sei, gibt leider dieser Versuch auch keine entscheidende Antwort. Es ist ja gar nicht ausgeschlossen, daß die 100 Kinderpflanzen wohl die Disposition gehabt haben, aber daß keine Infektion stattgefunden hat. Warum hat Iwanowski keine solche ausgeführt? Zweitens fehlen Kontrollpflanzen gänzlich, also Kinderpflanzen von einer gesunden Pflanze. Ferner hat man ein Recht zu fragen, ob wirklich keine Kreuzbefruchtung stattgefunden hat; nur wenn man noch nicht geöffnete Blumen kastriert, künstlich bestäubt und mit Tyllsäcken umgibt, nur dann ist man sicher gegen Kreuzbefruchtung. Und endlich: Wie sind die Familienverhältnisse der gewählten kranken Versuchspflanze? Ist sie eine einzelne kranke in einer sonst gesunden Familie gewesen, und wie sind die Eltern dieser kranken Pflanze gewesen? Alle diese Fragen müssen berücksichtigt werden bei der Beantwortung der uns beschäftigenden Frage, und können es auch, da die Tabakspflanze sich so ausgezeichnet selbstbefruchten läßt.

Die Untersuchung von Hunger (l. c.) ist mit großer Sorgfalt angestellt. Das Resultat ist aber höchst merkwürdig, indem gerade die Abkömmlinge von den gesunden Pflanzen am meisten Mosaikkrankheit aufwiesen (31,22 und 27,62 Proz. gegenüber 15,21 Proz.). Aber leider ist der Ausgangspunkt des Versuches, das Saatgut, gänzlich falsch gewählt. Hunger hat nämlich seine Saat von mehreren verschiedenen Pflanzen gewonnen, nicht von einer bestimmten Mutterpflanze. Und er hat nicht künstliche Befruchtung gebraucht, obschon die gesamten Mutterpflanzen auf dem Felde mitten zwischen kranken Pflanzen standen. Es ist natürlich im allgemeinen richtig, solche Pflanzen zu wählen, aber um so viel notwendiger ist die künstliche Selbstbefruchtung. Und endlich sind seine drei Saatproben von drei verschiedenen Plantagen geholt. Mit anderen Worten: Die Eigenschaften von Saat und Vaterpflanzen kennen wir gar nicht. Daß das Resultat dann scheinbar gegen alle Erwartungen ausgefallen ist, kann uns nicht wundern.

Neuerdings haben Bouyges und Perreau behauptet, die Frage gelöst zu haben, indem sie wirklich durch eine Selektion eine gegen Mosaikkrankheit sehr widerstandsfähige Rassen gezogen haben wollen. Von 210 Pflanzen mit 96,3 Proz. kranken haben sie die besten von den 3,7 Proz. gesund gebliebenen gewählt und von dieser Pflanze haben sie durch Selbstbefruchtung (mit Umgebung der Blumen von Tyllsäcken) zwei Kapseln gewonnen. Das nächste Jahr zeigten die ausgesäten Pflanzen nur 2 Proz. mosaikkranke; also eine Verbesserung von 96,3 Proz. zu 2 Proz., und das in einer Generation. Das ist nach anderen Erfahrungen auf dem schwierigen Gebiete der Selektion fast unglaublich. Der Versuch ist aber leider alles andere als einwandfrei; wo sind die Kontrollpflanzen, von Saat einer mosaikkranken Pflanze herrührend, die unter denselben Bedingungen wie die Versuchspflanzen ausgewachsen, eine viel größere Percentage von kranken Pflanzen als die Versuchspflanzen hervorgebracht hätten? Nur wenn eine solche Kontrolle ausgeführt worden wäre, könnte man dem Resultate von Bouyges und Perreau beitreten. Jetzt ist der Versuch ganz ohne Beweiskraft.

Ich selbst bin seit mehreren Jahren auf einigen Tabaksplantagen in Mitteljava mit Verbesserungen der da benutzten Tabaksvarietäten mittels Selektion beschäftigt gewesen und habe dabei natürlich auch meine Aufmerksamkeit auf die Mosaikkrankheit gerichtet. Diese Krankheit tritt hier sehr häufig auf; man kann ganze Felder finden, wo man nur schwer eine einzige ganz gesunde Pflanze sieht. Gewöhnlich kommt die Krankheit aber erst zum Vorschein, wenn die Pflanzen schon eine ziemliche Höhe erreicht haben, und hat infolgedessen keine wahrhaft verheerende Wirkung, kann aber wohl die Qualität der Blätter etwas herabsetzen. Auf kräftigen Pflanzen sieht man übrigens häufig, daß die Mosaikkrankheit der jungen Blätter bei deren Auswachsen überwunden wird und beinahe gänzlich verschwindet. Daß Pflanzen durch die Krankheit zu Grunde gehen, kommt in diesen Gegenden nur selten vor. Wenn die Pflanzen gegipfelt werden, bekommen die ausbrechenden Schößlinge fast regelmäßig die Krankheit. Bei der Selektion habe ich meine Aufmerksamkeit gerade auf diese Schößlingmosaik gerichtet; durch Auslese von schößlingmosaikfreien Pflanzen glaube ich, wirklich eine Verminderung der Krankheit erreicht zu haben.

Spezielle Versuche über die Resultate der Selektion gegenüber der Mosaikkrankheit habe ich jedoch erst im Jahre 1903 angefangen. Im Herbst dieses Jahres wurden auf einem Versuchsfeld mit Selektionspflanzen außer

den guten mosaikfreien Pflanzen auch vier stark mit Mosaikkrankheit befallene Pflanzen ausgesucht, um hiermit weitere Versuche anzustellen. In dieser Wahl des Ausgangsmaterials liegt aber eine große Fehlerquelle. Bei meinen Selektionsversuchen habe ich immer die Blütenstände der selektierten Pflanzen mit Tyllsäcken umgeben, um pollenübertragende Insekten (namentlich zwei kleine Bienensorten: *Apis indica* und *Trigona* sp.) fernzuhalten. Die auf dem erwähnten Versuchsfelde stehenden Pflanzen waren alle Geschwister, von einer „Elternpflanze“ (selbstbefruchteter Mutterpflanze) herstammend; sie gehörten also zu einer „reinen Linie“ (von Johannsen). Wenn der Versuch aber mit Aussicht auf ein schlagendes Resultat angestellt werden soll, müssen die mosaikkranken Mutterpflanzen einer „Mosaikfamilie“ angehören, und die mosaikfreien Kontrollpflanzen einer mosaikfreien Familie.

In meinem Versuche wurden die Blütenstände der ausgelesenen Pflanzen mit Tyllsäcken umgeben, die Saat wurde von jeder Pflanze auf einem besonderen Saatbeet ausgesät, an demselben Tage (31. Juli 1904) an dem die Saat der Kontrollpflanzen stattfand, und es wurde für ganz gleiche Bedingungen der Saatbeete gesorgt. Die Pflänzchen wurden an demselben Tage<sup>1)</sup> (13. September 1904) auf einer Versuchsparzelle ausgepflanzt.

Trotz des oben erwähnten Versuchsfehlers ergab das Resultat doch einen, wenn auch nicht großen, Unterschied zwischen den Versuchs- und Kontrollpflanzen:

Mosaikkrank waren					18. Okt.	1. Dez.
von Kindern von Versuchspflanzen	No. 1				3,6 Proz.	17,7 Proz.
„ „ „ „	„ 2				5,3 „	37,5 „
„ „ „ „	„ 3				2,0 „	18,2 „
„ „ „ „	„ 4				4,6 „	10,1 „
Kontrollpflanze					2,7 Proz.	7,5 Proz.

Dies sind allerdings nicht Zahlen, die vermuten lassen, daß wir so wie Bouyges und Perreau behaupten, in einem Jahre eine mosaikfreie Rasse durch Auslese werden erreichen können; sie lassen uns aber doch die Hoffnung, daß der Weg zum gewünschten Ziele führen wird: Erzeugung mosaikfreier Rassen durch Auslese innerhalb der vorhandenen Rassen mit Beibehaltung von deren guten Eigenschaften, so daß es nicht nötig wird, die Zuflucht zur Einführung anderer mosaikfreier Rassen zu nehmen (solche gibt es nach Linhart und Mezey, und nach Loew, zitiert bei Hunger, l. c. p. 60) mit unter den hiesigen Verhältnissen vielleicht zweifelhaften Eigenschaften. Die beweisenden Versuche müssen aber, wie ich gezeigt zu haben denke, exakter ausgeführt werden, als alle bis jetzt hierüber veröffentlichten.

#### Literatur.

- 1) Mayer, Adolf, Landw. Versuchsstationen. Bd. XXXII. 1886. p. 451; Bd. XXXV. 1888. p. 339.
- 2) Gontière, Journ. d'agricult. prat. Année LXIV. T. I. No. 16.
- 3) Marchal, Revue mycologique. T. XIX. 1897. p. 13.

1) Ich habe mehrmals bemerkt, daß Pflänzchen, die auf einem Saatbeet, wovon gute mosaikfreie Pflanzen geliefert wurden, übrigblieben und einige Tage später ausgepflanzt wurden, alle mosaikkrank geworden sind. Hiervon kann ich vorläufig gar keinen Grund angeben.

- 4) Raciborski, Verslag 's lands plantentuin te Buitenzorg over het jaar 1899. 1900. p. 110.
- 5) Woods, U. S. Departm. of agricult. Bur. of plant industry. Bull. No. 18. p. 22.
- 6) Sturgis, 22. annual report Connect. agric. stat. for 1898. Part III. p. 247.
- 7) Thaxter, Conn. report. 1899. p. 253.
- 8) Koning, Der Tabak. 1900. p. 84.
- 9) Hunger, De mozaiekziekte by Deli-tabak. (Meded. uit 's lands plantentuin. Vol. LXIII. 1903.)
- 10) Beilert, Over Deli-grond en Deli-tabak. (Meded. uit 's lands plantentuin. Vol. XLIII. 1900. p. 51.)
- 11) Bouyges et Perreau, Journal d'agricult. prat. 1904. 2<sup>me</sup> sem. p. 152; das-selbe in C. r. T. CXXXIX. p. 309.
- 12) Johannsen, W., Ueber Erbllichkeit in Populationen und in reinen Linien. 1903.
- 13) Iwanowski, Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. p. 1.

## Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

### Allgemeines.

- Newman, G.**, Bacteriology and public Health. 3 edition, revised. Philadelphia 1905. 497 p. 25 M.  
**Vanderyst, H.**, Prodrome des maladies cryptogamiques. I.: Peronosporineae. Louvain 1905. 88 p. M. Fig. 8°. 1,80 M.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Abel, Rud.**, Bakteriologisches Taschenbuch, enthaltend die wichtigsten technischen Vorschriften zur bakteriologischen Laboratoriumsarbeit. 9. Aufl. Würzburg (Stuber) 1905. VI, 117 p. 8°. 2 M.  
**Arthur, J. C.**, Cultures of Uredineae in 1904. (Journ. of Mycol. N. 76 [Vol. XI. N. 1] 1905.)  
**Buerger, Leo**, A new method for staining the capsules of bacteria. (Proc. of the New York pathol. Soc. T. IV. 1904. F. 7.)  
**Neumayer, L.**, Objektträgergestell der Massenfärbung von aufgeklebten Paraffinschnitten. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII. 1905. Heft 2. p. 181—185. 1 Fig.)  
**Pavlov, W.**, Kreosot als wasserentziehendes Mittel bei der Einbettung in Paraffin. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII. 1905. Heft 2. p. 186—187.)

### Systematik, Morphologie.

- Eckstein, K.**, *Aradus cinnamomeus* Panz., die Kiefern-rindenwanze. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. III. 1905. Heft 9. p. 567—576. 5 Fig.)  
**Pink, G. H.**, Similarity in nature of some of the morphological characters and habits of insects. (Journ. of trop. med. Vol. VIII. 1905. N. 17. p. 263—265. 12 Fig.)  
**Gandara, G.**, Los parásitos del Ganado. Mexico (Circ. Com. Parasit. agr.) 1905. 44 p. 8°. 55 Fig. 2 M.  
**Knoche, E.**, Zur Generationsfrage der Borkenkäfer. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. III. 1905. Heft 9. p. 353—368.)  
**Köck, Karl**, Der Himbeerglasflügler *Sesia (Bembecia) hylaciformis*. (Der Obstgarten. 1905. N. 9. p. 141. 3 Fig.)  
**Lagerheim, G.**, Baltiska Zooecidier. Ark. för Bot. Stockholm 1905. Bd. IV. Heft 1/3. 1 Taf.)  
**Peglion, Vittorio**, Intorno al deperimento dei medicei cagionato da *Urophlyctis alfalfae*, P. Magn. (Atti d. R. Accad. dei Lincei. Anno CCCII. 1905. Ser. 5. Rendiconti. Cl. di sc. fis., mat. e nat. Vol. XIV. Fasc. 10. p. 727—730. 1 Fig.)  
**Petri, L.**, Di alcuni caratteri culturali della *Stictis Panizzei* de Not. (Atti d. R. Accad. dei Lincei. Anno CCCII. 1905. Ser. 5. Rendiconti. Cl. di sc. fis., mat. e nat. Vol. XIV. Fasc. 10. p. 637—638.)

## Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

- Bergell, Peter**, Vergleich zwischen den organischen und anorganischen Fermenten. (Ztschr. f. klin. Med. Bd. LVII. 1905. Heft 3/4. p. 381—384.)
- Blau, Oskar**, Ueber die Temperaturmaxima der Sporenkeimung und der Sporenbildung, sowie die supramaximalen Tötungszeiten der Sporen der Bakterien, auch derjenigen mit hohen Temperaturminima. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 4/6. p. 97—143. 1 Taf.)
- Cannon, Matthew J.**, *Saccharomyces thermautotrophicus*. Für Wärme widerstandsfähige Hefe. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 36. p. 403—404. [Brewers Gaz. July 1905.])
- Conradi, H. and Kurpjuweit, O.**, Ueber spontane Wachstumshemmung der Bakterien infolge Selbstvergiftung. (München. med. Wchnschr. Jg. LII. 1905. N. 37. p. 1761—1764.)
- Euler, Hans**, Katalyse durch Fermente. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XLV. 1905. Heft 5/6. p. 420—447.)
- Hanow, H.**, Fortschritte auf dem Gebiete der Spiritus- und Preßhefe-Fabrikation. (Chemiker-Ztg. Jg. XXIX. 1905. N. 70. p. 921—925.)
- (van Laer, V.)**, Ueber die Agglutination der Hefe, insbesondere über die durch Borax bewirkte Ausflockung. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 36. p. 480—482. [Bull. Soc. chim. de Belgique.])
- Meisenheimer, Jakob**, Die Chemie der Gärungserscheinungen. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 36. p. 399—403. [Wchnschr. f. Brauerei.])
- Swellengrebel**, Sur la division nucléaire de la levure pressée. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 8. p. 503—515. 1 Taf.)
- Vogel, J.**, Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes durch Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 4/6. p. 174—188.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

## Luft, Wasser, Boden.

- Ehrenberg, Paul**, Stickstoffverluste in faulenden Peptonlösungen, ein Beitrag zur Methodik der bakteriellen Bodenuntersuchung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 4/6. p. 154—164.)
- Schoofs, F.**, Épuration biologique des eaux-vannes. (Presse méd. Belg. Année LVII. 1905. N. 35. p. 830—832.)
- Volpino, Guido**, Sopra un interessante microorganismo radunatore d'azoto isolato dal terreno. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XVI. 1905. N. 17. p. 587—595. 1 Fig.)
- Windsor, F. N.**, The bactericidal power of lieutenant Nesfield's method of purifying drinking water and sterilizing water for surgical purposes. (Indian med. Gaz. Vol. XL. 1905. N. 8. p. 299—300.)

## Nahrungsmittel.

- Wiley, H. W.**, Influence of food preservatives and artificial colors on digestion and health. 1. Boric acid and borax. (U. S. Depart. of agric. Bureau of chemistry. Bull. N. 84. P. 1. Washington 1904.) 477 p. 8°.
- Zur Frage der Salicylwirkung. (Dtsche Nahrungsmittel-Rundsch. Jg. III. 1905. N. 18. p. 147—148.)

## Fleisch.

- Vagedes**, Ueber Fleischvergiftung in gerichtlich-medizinischer Beziehung. (Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. Folge 3. Bd. XXX. 1905. Heft 1. p. 108—138.)

## Milch, Molkerei.

- Brüning, Hermann**, Untersuchungen der Leipziger Marktmilch, mit besonderer Berücksichtigung der in derselben nachweisbaren Streptokokken. (Jahrb. f. Kinderheilk. Folge 3. Bd. XII. 1905. Heft 1. p. 1—21.)
- Lukin, Mstislav**, Experimentelle Untersuchungen über Sterilisierung der Milch mit Wasserstoffsperoxyd, unter spezieller Berücksichtigung des von Budde angegebenen Verfahrens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 1. p. 20—32.)
- Blumenthal, Ferdinand und Wolff, Hans**, Beitrag zur Milchgärung. (Charité-Ann. Jg. XXIX. 1905. p. 12—17.)
- Pennington, M. E. and Mc Clintock, J. H.**, A preliminary report on the pasteurized and clean milk of Philadelphia. (American Journ. of the med. sc. Vol. CXXX. 1905. N. 1. p. 140—149.)
- Riegel, M.**, Neues Verfahren zur Sterilisierung von Milch und Rahm mit Berücksichtigung der dänischen Milch. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XIX. 1905. N. 30. p. 763—764.)



## Wein, Weinbereitung.

- Bouffard, A.**, Étude des causes qui font varier le titre alcoolique des vins rouges de goutte et de presse. (Ann. de l'école nat. d'agric. de Montpellier. N. Sér. T. IV. 1905. Fasc. 4. p. 275—296.)
- Die Weinbauverhältnisse in den reblausverseuchten Gebieten Mährens. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXII. 1905. N. 31. p. 304—305.)
- Kelhofer, W.**, Die Klärung des Mostes. Bern 1905. 24 p. 8°. 6 Fig. —,50 M.

## Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

- Bassett-Smith, P. W.**, Experiments to demonstrate the germicidal power of copper and copper salt on pathogenic and non pathogenic organisms. (Journ. of preventive med. Vol. XIII. 1905. N. 7. p. 388—399.)
- Cappellani, Salvatore**, Il tachiolo nella disinfezione degli erbaggi. (Ann. d'igiene sperim. Vol. XV. 1905. Fasc. 3. p. 463—471.)
- Dibdin, W. J.**, Abstract of a lecture on the bacterial treatment of sewage. (Journ. of preventive med. Vol. XIII. 1905. N. 7. p. 381—387.)
- Hirsch, Julius**, Der Einfluß von Formaldehyd auf Vermehrungsenergie und Gärungsenergie, sowie auf die Generationsdauer verschiedener Hefearten. (Allg. Ztschr. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 32. p. 351—353.)
- , Der Einfluß von Formaldehyd auf Vermehrungsenergie und Gärungsenergie, sowie auf die Generationsdauer verschiedener Hefearten. [Schluß.] (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikat. Jg. XXXIII. 1905. N. 35. p. 387—389.)
- Kinyoun, J. J.**, The bacterial content of the railway coach. (Med. News. Vol. LXXXVII. 1905. N. 5. p. 193—199. 3 Fig.)
- Pagnini, P.**, Sulla disinfezione delle stalle. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XVI. 1905. N. 15. p. 507—531.)
- Pfeller, Willy**, Zur Kenntnis der Desinfektion infizierten Düngers durch Packung. (Arb. a. d. hyg. Inst. d. k. tierärztl. Hochschule Berlin. N. 6.) Berlin (Schoetz) 1905. 8°. 100 p. 3 M.
- Roepke, O.**, Bemerkungen zu dem Aufsatz von Werner: „Theoretisches und Praktisches zur Formalindesinfektion auf dem Lande“ (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVIII. 1905. N. 15. p. 480—490. 1 Fig.)
- Sarwey, O.**, Bakteriologische Untersuchungen über Händedesinfektion und ihre Endergebnisse. Berlin (Hirschwald) 1905. IV, 91 p. 8°. 4 Taf. 2,40 M.
- Schlieben**, Ueber Formysol ein neues Desinficiens. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVIII. 1905. N. 16. p. 506—510.)
- Schumacher**, Die Desinfektion von Krankenhausgruben mit besonderer Berücksichtigung des Chlorkalkes und ihre Kontrolle. (Gesundheits-Ingenieur. Jg. XXVIII. 1905. N. 22. p. 361—368.)
- Trillat**, Propriétés antiseptiques des fumées: essais de désinfection avec les vapeurs dégagées du sucre par la chaleur. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLI. 1905. N. 3. p. 215—217.)
- Vogel, Karl**, Experimentelle Beiträge zur Frage der Desinfektion der Haut. (Dtsche med. Wehnschr. Jg. XXXI. 1905. N. 30. p. 1179—1182.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

## Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Bacterial disease of tomatoes. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 5. p. 300—301. 1 Fig.)
- Beven, Francis**, Coconuts and their enemies. (Tropical Agriculturist. Vol. XXIV. 1905. N. 11. p. 111—114.)
- Blackleg in potatoes. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 5. p. 296—298.)
- Brizzi, Ugo**, Intorno alla malattia del riso detta Brusone. (Atti d. R. Accad. dei Lincei. Anno CCCII. 1905. Ser. 5. Rendic. Cl. di sc. fis., mat. e nat. Vol. XIV. Fasc. 10. p. 576—582.)
- Delle, E.**, Le rougeot de la vigne. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 65. p. 258.)
- Die Peronospora in Ungarn. (Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 32. p. 376.)
- Die Reblauskrankheiten in Elsaß-Lothringen im Jahre 1904. (Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 32. p. 376.)
- Diseased evergood potatoes. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 5. p. 294—296. 1 Fig.)
- Experiments in the prevention of the cabbage flea. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 5. p. 298—300. [Dtsche landw. Presse. Juli 1905].)
- Fuchs, Gilbert**, Ueber das Ringeln der Spechte und ihr Verhalten gegen die kleineren

- Forstschädlinge. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 8. p. 317—341. 7 Fig.)
- Green, E. Ernst**, Entomological notes. (Tropical Agriculturist. Vol. XXIV. 1905. N. 11. p. 102; N. 12. p. 135—137.)
- , Caterpillar pest of the Rice-fields. (Tropical Agriculturist. Vol. XXIV. 1905. N. 12. p. 157—159.)
- Guiraud, D.**, Emploi des sarments et des feuilles comme engrais. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 63. p. 250.)
- Heinricher, E.**, Ein Hexenbesen auf *Prunus padus* L. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 8. p. 348—351. 2 Fig.)
- , *Exoascus cerasi* (Fuckel) Sadebeck als günstiger Repräsentant Hexenbesen bildender Pilze für pflanzenbiologische Gruppen. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 8. p. 344—348. 1 Fig.)
- Houard, C.**, Recherches anatomiques sur les galles de tiges: Acrocécidies. (Ann. des sc. nat. Botanique. Sér. 8. Année LXXX. T. XX. 1905. N. 5/6. p. 289—384. 189 Fig.)
- Kirchner, Oskar**, Die Krankheiten und Beschädigungen unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. 2. vollst. umgearb. Aufl. in 6 Lief. Lief. 1. Stuttgart 1906. 96 p. 8°. 1,50 M.
- Krüger, Friedrich**, Untersuchungen über den Gürtelschorf der Zuckerrüben. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LIV. 1905. Heft 15. p. 516—517.)
- Kulisch, Paul**, Ueber das diesjährige Auftreten von *Peronospora* am Rebstocke, besonders auf den Trauben. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 8. p. 548—552.)
- Larch canker. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 5. p. 307—310. 5 Fig.)
- Le Phylloxéra en France. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 63. p. 249.)
- Lindinger**, Eine Variation des sogenannten Minierens bei Schildläusen. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. I. 1905. Heft 7. p. 291—292.)
- Muth, Franz**, Die Lederbeerenkrankheit der Trauben. (Dtsche Wein-Ztg. Jg. XLII. 1905. N. 60. p. 641—642. [Hessische landw. Ztschr.].)
- Beh**, Die 15. Jahresversammlung der amerikanischen praktischen Entomologen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 3. p. 155—158.)
- Reuter, E.**, In Finnland im Jahre 1903 aufgetretene schädliche Insekten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 3. p. 151—152.)
- , In Dänemark beobachtete Pflanzenkrankheiten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 3. p. 154—155.)
- , In Schweden aufgetretene schädliche Insekten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 3. p. 154—155.)
- Reuter, E.**, In Norwegen beobachtete Pflanzenkrankheiten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 4. p. 226—228.)
- Rippert, Paul**, Neuere über Pflanzenkrankheiten. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LIV. 1905. Heft 14. p. 481—487; Heft 15. p. 513—516.)

### Inhalt.

- Fuhrmann, Franz**, Ueber die Erreger des Fadenziehens beim Brote, p. 385.
- Jensen, Hjalmar**, Ueber die Bekämpfung der Mosaikkrankheit der Tabakpflanze, p. 440.
- Lönnis, F.**, Untersuchungen über den Verlauf der Stickstoffumsetzungen in der Ackererde. (Schluß), p. 430.
- Marshall, Charles E.**, Extended Studies of the Associative Action of Bacteria in the Souring of Milk, p. 400.
- Osterwalder, A.**, Die Phytophthoraafäule beim Kernobst, p. 435.
- Rahn, Otto**, Die Zersetzung der Fette, p. 422.
- Swellengrebel, N. H.**, Bemerkung zu der Arbeit des Herrn Dr. E. Pantanelli über Pression und Tension der Hefen, p. 419.
- Troili-Petersson, Gerda**, Bemerkungen zu der Arbeit von A. Rodella: „Einiges über die Bedeutung der direkten mikroskopischen Präparate für das Studium des Käsereifungsprozesses, p. 430.
- Neue Litteratur**, p. 445.

Zusammenfassende Uebersichten.

*Nachdruck verboten.*

Die Bekämpfung der ampelophagen Mikrolepidopteren  
in Frankreich.

Von J. Dewitz.

Nachdem in Frankreich die Reblaus aufgehört hat, eine bedeutendere Rolle zu spielen, hat sich das Interesse der weinbauenden Kreise jenes Landes mehr den anderen tierischen Parasiten der Rebe zugewandt. Unter diesen stehen aber als Feinde des Weinbaues die drei Mikrolepidopteren *Tortrix pilleriana* („La Pyrale“), *Cochylis ambiguella* („La Cochylis“) und *Eudemis botrana* obenan. Die zuletzt genannte Art fehlte bisher, wenn man von einem ganz beschränkten Gebiete absieht, der französischen Fauna und ist für Frankreich wie für Deutschland eine aus Italien stammende Importation.

Während *C. ambiguella* und *E. botrana* sehr ähnliche Lebenserscheinungen aufweisen, nimmt in dieser Hinsicht *T. pilleriana* eine isolierte Stellung ein. Diese Art ist auch in ihrem Vorkommen mehr auf bestimmte Gebiete beschränkt, ohne daß man genau sagen kann, welche Momente sie bei der Wahl der Gegend leiten. Besonders die Départements du Rhône und de Saône-et-Loire werden von ihr bewohnt und diese sind sozusagen das klassische Land für den Rebenparasiten. In der Gegend von Romanèche (S.-et-L.), berichtet Audouin in seiner Monographie der „Pyrale“, suchten die Bewohner durch Prozessionen dem Uebel, welches die Raupen immer wieder veranlaßten, Einhalt zu tun, und noch im Jahre 1840 fand diese unter dem Namen Notre-Dame-des Vers bekannte Prozession statt. Die *T. pilleriana*, deren Raupe in Deutschland den Namen „Springwurm“ führt, tritt sozusagen mit größerem Ungestüm auf, als die beiden anderen Arten und verwüstet in kürzerer Zeit große Strecken von Weinland. Die Raupe nährt sich eigentlich von den Blättern der Rebe, frißt aber bei stärkerer Invasion den ganzen Rebstock kahl, indem sie weder die jungen Trauben noch auch die Knospen verschont und nur die Reiser und das Holz übrig läßt. Dadurch kann die Ernte nicht allein für das Jahr der Invasion, sondern auch für weitere Jahre geschädigt werden. Der Zeitpunkt des Auftretens der verschiedenen Zustände des Schmetterlings richtet sich natürlich ebenso wie bei *C. ambiguella* und *E. botrana* nach der Gegend. Denn in Frankreich wird der Weinbau unter den verschiedensten klimatischen Verhältnissen getrieben. Die Champagne, Isle de France und auch die Bourgogne, das Mâconnais und das Beaujolais besitzen ganz andere Bedingungen als die Gebiete am Mittelmeer, wie die Alpes Maritimes, der Var, Languedoc u. s. w., welche zur Region der Olive gehören oder in denen neben der Palme die Orange und die Citrone wächst. Denn was die Provinzen des afrikanischen Kontinents angeht, so hört man hier von dem Auftreten der genannten drei Schmetterlinge kaum sprechen. Den Winter bringt nun *T. pilleriana* als winziges Räupchen, von einem Cocon umgeben, unter der Borke der Reben oder in den Rissen der Rebpfähle zu. Anfangs Mai erwachen diese

Räupchen, kommen nach und nach aus ihrem Versteck hervor und siedeln sich auf den sich entfaltenden Blättern der Rebe an. Später falten sie die Blätter mittels Gespinnstfäden zusammen und halten sich in diesen Falten auf. Ausgewachsen verpuppen sie sich in solchen Blättern, besonders wenn diese vertrocknet sind. Die ersten Schmetterlinge zeigen sich im Beaujolais und im Mâconnais im Laufe des Juli. Dieselben legen ihre Eier in Plättchen von 50—60 Stück auf der Oberseite der Blätter ab. Die sehr bald auskommenden Räupchen, welche überwintern, wachsen vom August bis zum nächsten Frühjahr in keiner sichtbaren Weise.

*Eudemis botrana* und *Cochylis ambiguella*, von welcher letzteren Art die Raupe der ersten Generation in Deutschland als Heuwurm und die der zweiten Generation als Sauerwurm bezeichnet wird, verbringen den Winter als Puppe unter der Borke der Reben oder in den Spalten der Rebpfähle. Ende April, besonders aber den ganzen Mai hindurch, kommen die Schmetterlinge aus, welche die Eier einzeln an den Knospen der Rebenblüten ablegen. Hier fressen auch die bald darauf den Eiern entschlüpfenden Raupen. Im Juli erscheint dann die zweite Generation von Schmetterlingen. *Eudemis botrana* besitzt aber noch eine dritte Generation, da sich das erwachsene Insekt dieser Art im August und anfangs September zum dritten Male einstellt. Die Raupen der zweiten Generation von *C. ambiguella* und der zweiten und dritten Generation von *E. botrana* leben von den Beeren der Trauben, auf welchen auch die Eier abgelegt werden. Kurz vor der Reife der Trauben verlassen die Raupen diese und ziehen sich in die Winterquartiere zurück, in denen sie sich je nach der Gegend früher oder später verwandeln. Diese Verwandlung tritt bei *C. ambiguella* in den kühleren Gegenden im Oktober ein, im Gebiet des Olivenbaumes dagegen erst im Dezember und selbst noch im Januar. Bei *E. botrana* ist die Verwandlung viel präziser. Sie findet sehr bald nach dem Verlassen der Trauben statt. Während *E. botrana* mehr auf den Südwesten des Landes beschränkt ist, tritt *C. ambiguella* mehr oder weniger überall auf. Doch ist ihr stärkeres Erscheinen im Südosten und im Südwesten erst verhältnismäßig neuen Datums.

Diese einleitenden Bemerkungen über die Biologie der in Frage stehenden Schmetterlingsarten werden die späteren Ausführungen über die Bekämpfungsmethoden der Parasiten erleichtern, denn diese beziehen sich nicht nur auf ein besonderes Entwicklungsstadium der Arten, sondern betreffen fast alle Phasen ihres Lebens. Diese Verfahren lassen sich in rationeller Weise in Winter- und Sommergefahren einteilen. Die ersteren bilden bis jetzt den wichtigeren Teil der Bekämpfung der drei ampelophagen Mikrolepidopteren.

## I. Winterbehandlung (traitement d'hiver).

### Echaudage (ébouillantage).

Die Winterbehandlung richtet sich auf zwei Gegenstände, nämlich auf die Rebstöcke, genauer auf die Borke der Reben und auf die Rebpfähle. Zunächst kommt hier die Behandlung mit kochendem Wasser (échaudage, ébouillantage) in Betracht, welche in erster Linie gegen die kleinen, unter der Borke der Rebe überwinternden Raupen von *T. pilleriana* gerichtet ist. Dieses Verfahren stammt (1842) von einem Winzer Namens Raclet aus Romanèche (Saône-et-Loire) und die Ueber-

lieferung will, daß dieser im Winter alle Morgen das heiße Wasser seiner Toilette durch das Fenster auf die in der Nähe befindlichen Rebstöcke gegossen hat und so auf den Gedanken geführt wurde, die Reben im Winter mit heißem Wasser zu begießen und in dieser Weise die schädlichen Insekten zu vernichten. Dieses alte Verfahren wird in den Gegenden, in denen die „Pyräle“ beständig vorkommt, wie in Burgund und in den Gegenden bis nach Lyon herab, noch immer als das sicherste Bekämpfungsmittel gegen diesen Parasiten angesehen. Es besteht im wesentlichen darin, daß die Männer, Frauen oder Kinder, welche die Arbeit ausführen, aus Blechkannen (cafetières) kochendes Wasser auf die Reben gießen, wobei sie das Wasser aus einem in der Nähe stehenden Ofen (chaudière) zapfen. Die Cafetières haben nach Art der Kaffeemaschinen ein vorstehendes Ausflußrohr. Der Arbeiter gießt das heiße Wasser, indem er unten am Stocke anfängt und langsam in die Höhe geht bis zur ersten Knospe, welche das Wasser nicht berühren darf. Darauf führt er den Wasserstrahl wieder langsam herab bis zum Fuße des Stockes. Es darf niemals weniger als 1 l für einen Stock verwandt werden und für ältere Stöcke mit vielen Armen (Schenkeln) muß die verbrauchte Wassermenge 2—3 l betragen. Der bei den Arbeitern stehende Ofen ist gewöhnlich klein und handlich, mit Feuer- und Wasserraum, Schornstein und Zapfhahn versehen. Der Wasserraum faßt gewöhnlich 25—45 l. An zwei seitlichen Griffen tragen zwei Arbeiter den Ofen leicht von einem Orte zum andern. Die Unterhaltung des Feuers und das Verzapfen des kochenden Wassers wird von dem Leiter der Arbeiten beaufsichtigt. Es kommt bei diesem Verfahren darauf an, daß die Borke des Stockes auf eine Temperatur gebracht wird, die sich der des kochenden Wassers soviel wie möglich nähert. Daher muß das Wasser im Kessel wirklich beständig im Sieden erhalten werden und eine möglichst geringe Abkühlung in den Cafetières stattfinden. Und aus diesem Grunde besitzen die fabrikmäßig hergestellten Kannen eine doppelte Wandung, welche zur Isolierung der eingeschlossenen Luft dient. In neuerer Zeit sind auch Cafetières à réchaud im Gebrauch. Es befindet sich bei diesen unter der eigentlichen Kanne ein Raum für glühende Holzkohlen, die das Feuer beständig im Sieden erhalten. Da aber auch schon die einfachen Cafetières das Handgelenk des Arbeiters ermüden, so ist eine solche Zugabe geeignet, diesen Uebelstand noch zu erhöhen. Man hat auch in neuerer Zeit Öfen konstruiert, aus denen man mittelst eines Schlauches mit Lanze (Endrohr) den Strahl des heißen Wassers direkt auf die Borke führt und bei denen man die Füße, auf denen der Ofen ruht, durch einen eisernen Karren ersetzt hat. Für Besitzer oder Gesellschaften, welche ausgedehnte, mit Reben bepflanzte Flächen besitzen, sind die fahrbaren Öfen mit Gummischlauch und Lanze vorzuziehen, da die Arbeit schneller von statten geht. Dieses System arbeitet aber unregelmäßiger als die bisher angewandten Cafetières und verlangt daher größere Sorgfalt und größere Ueberwachung. Diese sind aber auch bei den Cafetières notwendig, wenn das Verfahren wirklich von Wert sein soll, d. h. wenn man mindestens 90 Proz. der unter der Borke versteckten Raupen töten will.

Um dieses zu erreichen, muß das Wasser auf sämtlichen Punkten der Borke eindringen und dieses in möglichst heißem Zustande tun. Deshalb aber verrichtet man die Arbeit am besten an schönen, warmen, windstillen Tagen und zu einer Zeit, in der die Borke trocken ist. Solche Bedingungen sind aber am besten im Anfange des Frühlings, im

Monat März, erfüllt. Zu dieser Zeit ist auch der Winterschlaf der kleinen Raupen des Springwurmes weniger tief. Sie fangen unter dem Einfluß der wärmeren Jahreszeit bereits an zu erwachen und erliegen daher leichter der Wirkung des heißen Wassers.

Was die Kosten des Verfahrens bei Anwendung von Cafetières angeht, so gibt dieselben J. B. Sornay für das Dép. du Rhône auf 70,50 frcs. für den Hektar zu 10000 Stöcken an. Hierbei sind drei Frauen (verseuses) zum Gießen und ein Mann für die Besorgung des Ofens angenommen. Im einzelnen verteilen sich die Kosten in folgender Weise:

13 Arbeitstage mit 3 Frauen = 39 Arbeitstage zu 2,25 frcs.	= 87,75 frcs.
13 1 Mann 3,50 frcs.	= 45,50 „
550 kg Brikettkohlen zu 4,50 frcs. die 100 kg	= 25,30 „
Amortisierung des Materials auf 8 Jahre berechnet	= 5 „
2 ha 32 a zu 10000 Stöcken	= 163,55 frcs.
1 ha zu 10000 Stöcken	= 70,50 „

Für die Behandlung dieser 2 ha 32 a sind 155 hl Wasser erforderlich.

Für das Dép. de l'Hérault, eines der südlichen Departements, gibt Coste-Floret die Kosten für das Echaudageverfahren in folgender Weise an:

45 hl Wasser, zu 0,40 frcs. an Ort und Stelle	= 18 frcs.
6 Frauen zu 1,50 frcs.	= 9 „
4 Arbeiter zu 3 frcs. für die Bedienung von 2 Oefen	= 12 „
200 kg Kohlen zu 4 frcs.	= 8 „
Allgemeine Kosten und Aufsicht	= 2,50 „
Amortisierung und Unterhaltung des Materials	= 4 „
Kosten für 1 ha	= 53,50 frcs.

In neuerer Zeit bemüht man sich vielfach, das Heißwasserverfahren in verschiedener Weise zu modifizieren. Es ist dabei zunächst das von Guyot ersonnene Verfahren zu erwähnen. Am Fuße des Weinstockes wird ein Aermel aus undurchdringlicher Leinwand befestigt, welcher den Stock umgibt, wie der Aermel den Arm und der von in die Erde gestoßenen eisernen Stäben mit einem Haken am oberen Ende getragen wird. In den Aermel wird kochendes Wasser gegossen, das hier 30 bis 40 Minuten verbleibt, worauf es mit einer Pumpe wieder aufgesogen wird. Dieses Verfahren tötet aber viele Zweige; die Reben leiden sehr und die Ernte wird auf 50 Proz. reduziert. Daher hat die Methode keine weitere Anwendung gefunden.

Besonders aber hat man auf der im Jahre 1903 in Carcassonne stattgefundenen Preisschau (concours) Apparate zur Kenntnis des weinbauenden Publikums gebracht, welche zur Verwendung von heißer Luft oder heißem Dampf im Winterverfahren dienen sollten. Den heißen Dampf oder die heiße Luft läßt man bei diesen Apparaten aus einem Schlauch und einer Lanze (Endrohr) entweder direkt auf die Borke der Rebe strömen oder aber die Reben sind mit einer Glocke bedeckt (clochage), in welche der Dampf oder die heiße Luft geführt wird. In anderen Fällen wieder war der heiße Wasserdampf nicht rein, sondern mit Insektiziden gesättigt. Aber alle diese Modifikationen des ursprünglichen Heißwasserverfahrens von Raclet sind bis jetzt noch zu wenig ausgebildet und wirken daher auf die Reben oft schädlich. Sie lassen sich wohl zum Teil auf das weiter unten zu beschreibende von Gastine und Vermorel bekannt gegebene Verfahren (étuvage, p. 466) zurückführen, das im Sommer gegen den erwachsenen Springwurm angewandt

wurde und das die Ausführung im großen meiner Experimente über die Wärmewirkung auf die Raupen von *T. pilleriana* und *C. ambiguella* bildete.

Wenn man auch die Erwärmung der Borke der Reben auf eine hohe Temperatur unter Anwendung von kochendem Wasser im allgemeinen gegen die kleinen, unter der Borke versteckten Raupen von *T. pilleriana* benutzt, so hat es doch nicht an Versuchen gefehlt, in gleicher Weise die ebenfalls unter der Borke überwinternden *C. ambiguella* und *E. botrana* zu töten. Bei diesen beiden Arten muß man aber folgende Punkte beachten. Wie wir gesehen haben, verlassen die erwachsenen Raupen dieser Art vor der Ernte die Raupen und ziehen sich unter die Borke zurück. Während sich nun *E. botrana* bald verpuppt, verharret *C. ambiguella*, besonders im südwestlichen Frankreich, noch längere Zeit im Zustande der Larve.

Es war daher im Jahre 1890 von Valéry Mayet vorgeschlagen worden, das bis dahin gegen die *T. pilleriana* angewandte Echaudageverfahren auch gegen die *C. ambiguella* zu benutzen, solange sich diese unter der Borke noch im Zustande der Raupe befände. Im Jahre 1892 hat darauf Déresse den guten Erfolg des Verfahrens in Villefranche (Rhône) experimentell nachgewiesen, ebenso wie bald darauf Valéry Mayet selbst im südlichen Frankreich (Petite Camargue). Wie ich in der Station von Villefranche (Rhône) konstatiert habe, geht die Raupe bereits bei 45° zu Grunde. Dennoch hat dieses Verfahren gegen die *C. ambiguella* keine Verbreitung gefunden. Gewöhnlich wird gegen dasselbe von den Weinbauern eingewendet, daß man die Reben nicht mit heißem Wasser begießen dürfe, bevor sie nicht geschnitten sind. Zu der Zeit aber, in welcher die Arbeit ausgeführt werden müßte, sei das Holz des Jahres noch nicht gereift (aoûté). Dieser Einwand mag berechtigt sein für die kälteren Gegenden, in welchen die Raupe von *C. ambiguella* schon im Oktober zur Verwandlung gelangt, oder für die Raupe von *E. botrana*, welche sich ebenfalls sehr bald nach ihrem Rückzuge unter die Borke verpuppt. In den südlichen Gegenden, in Languedoc, in der Region der Olive, aber findet die Verwandlung erst im Dezember und noch später statt und hier stände der Anwendung des Heißwasserverfahrens für die Vernichtung der Raupe von *C. ambiguella* wohl nichts im Wege. Man hat nun aber seit kurzem in der Gironde versucht, im Winter auch die Puppen von *C. ambiguella* und von *E. botrana* durch das Echaudageverfahren zu töten. Man ist darauf wohl durch die Experimente von Laborde geführt, welcher für die Puppen jener beiden Arten die tödliche Temperatur in der Weise festsetzte, wie sie aus der folgenden Tabelle hervorgehen.

*Eudemis botrana*. Die aus dem Cocon gewonnenen Puppen werden 1 Minute lang in Wasser von verschiedenen, wachsenden Temperaturgraden gelegt.

Bei 40°	sterben	20 Proz.
„ 45°	„	40 „
„ 50°	„	100 „
„ 55°	„	100 „

Wenn dagegen die Temperatur des Wassers konstant auf 55° bleibt und die Expositionsdauer zunimmt, so erhielt derselbe Autor folgende Resultate:

Nach $\frac{1}{4}$ Min.	sterben	50 Proz. Puppen ohne Cocon	und	10 Proz. Puppen mit Cocon
„ $\frac{1}{2}$ „	„	100 „	„	100 „
„ 1 „	„	100 „	„	100 „

Bei 50° und 1 Minute Expositionsdauer haben Puppen ohne Cocon nicht merklich gelitten.

*C. ambiguella*. Für die Puppen von *C. ambiguella* waren die tödlichen Temperaturgrade niedriger. Im Cocon gingen sie bei 55° nach  $\frac{1}{4}$  Minute und bei 50° nach  $\frac{1}{2}$  Minute sämtlich zu Grunde.

In den von *T. pilleriana* heimgesuchten Gegenden (Saône-et-Loire, Rhône, Bourgogne, Mâconnais), in denen man seit lange schon das Echaudageverfahren anwendet, ist man nicht der Meinung, daß dasselbe die Puppen der *C. ambiguella* zu vernichten im stande ist. Man kann aber daran denken, daß die beständige Anwendung des Verfahrens dazu beigetragen hat, das Auftreten des Parasiten in jenen Gegenden niederzuhalten. Denn in der Tat zeigt er sich dort nicht allzu stark. Dieses kann aber auch daran liegen, daß sich *T. pilleriana* (pays à Pyrale) und *C. ambiguella* (pays à Cochylis) in ihrem Vorkommen meist oder oft ausschließen. Sodann aber mag auch die Borkenbildung der Rebe in Frage kommen. Dieselbe wird wahrscheinlich in dem den Alpen vorgelagerten Hügellande und Flachlande mit den heißen Sommern stärker sein als in der Gironde mit ihrem ozeanischen Klima. Eine stärkere Borkenbildung trägt aber natürlich viel zu dem Schutze bei, den die Borke schon an und für sich gegen den Einfluß des heißen Wassers gewährt.

#### Badigeonnage.

Es liegt auf der Hand, daß die Bekämpfung der Räupchen von *T. pilleriana* und der Puppen von *C. ambiguella* und *E. botrana*, welche alle drei unter der Borke der Reben überwintern, vereinfacht würde, wenn es gelänge, einen hohen Prozentsatz jener Organismen durch Anstreichen (badigeonnage) der Rebstöcke mit einer insekten-tötenden Flüssigkeit zu vernichten. Man hat auch seit längerer Zeit schon nach dieser Richtung hin Versuche angestellt, die dann eine Zeit lang gewissermaßen ruhen, aber immer wieder aufgenommen werden. In letzterer Zeit hat man sich hierbei wohl durch die analoge Behandlung der Obstbäume in den Vereinigten Staaten leiten lassen. Es scheint sogar, als ob sich die Tendenz geltend macht, in der Winterbehandlung das alte klassische Verfahren von Raclet durch Anwendung von Insektiziden zu ersetzen.

Indem wir die älteren Formeln, welche in dem Badigeonnageverfahren Anwendung gefunden haben, übergehen, wollen wir zunächst die Angaben von Laborde erwähnen. Nach ihm sind die wirksamsten Zusammensetzungen die verseiften Emulsionen der schweren Steinkohlenteeröle. Petroleum ist weit davon entfernt, die gleiche Wirkung zu haben. Laborde empfiehlt folgende Formel, welche sich an bekannte, ähnliche Formeln anlehnt:

Ungelöschter Kalk	30 kg
Steinkohlenteeröl	10 „
Kaustische Soda	1 „
Schwefelkohlenstoff	5 „
Wasser	54 „
	100 kg

Man löscht den Kalk in dem gleichen Gewicht Wasser (No. 1); man löst die kaustische Soda in den übrigen 24 l Wasser (No. 2) und man mischt das Steinkohlenteeröl mit dem Schwefelkohlenstoff (No. 3). Man mischt darauf No. 2 mit No. 3 und erhält eine Emulsion, zu der man



No. 1, d. h. den gelöschten Kalk unter beständigem Rühren hinzufügt. Die braune Crème, welche man erhält, trägt man mit dem Pinsel auf der Borke auf.

Laborde empfiehlt sogar für die Behandlung der Rebstöcke eine für das Desinfizieren der Rebpfähle geeignete Mischung, welcher wir weiter unten begegnen werden. Man darf aber diese kräftig wirkende Mischung, wie auch die obige, nicht im Winter, während der Ruhe der Rebe, anwenden, weil man diese dann töten würde, sondern zu einer Zeit, die dem Erwachen der Pflanze, dem Bluten oder Aufsteigen des Saftes, nahe liegt. Man hat dann bis zum Auskommen der Schmetterlinge aus den Puppen noch einen Monat vor sich. Nach Laborde stellen sich die Kosten der Zubereitung des oben angegebenen Mittels und der Arbeit auf 80 frs. pro Hektar zu 10000 Stöcken (Gironde).

Ueber eingehende Versuche, welche in den Weinbergen der Domäne du Viguier bei Carcassonne (Aude) am 19. März des vorigen Jahres zur Vernichtung der überwinternden Springwurmräupchen ausgeführt wurden, berichtet J. Sabatier. Dieselben wurden allerdings mit verschiedenen Insektiziden von meist unbekannter Zusammensetzung angestellt. Um ein gutes Vergleichsobjekt zu haben, wurde in jeder behandelten Parzelle ein Stück dem Echaudageverfahren unterworfen, welches recht gut ausgefallen war. Das beste Resultat wurde erlangt mit der „Emulsion adhérente Arnal-Teyssyre“, deren Bestandteile vom Erfinder geheim gehalten wurden. Die Jury erklärte die mit dieser Emulsion erhaltenen Resultate für gleichwertig mit denen einer guten Echaudagebehandlung. Von diesem Insektizid kosten 20 kg 5 frs. Mit 40 l Wasser vermischt, genügen sie für die Behandlung von 1000 Stöcken. Eine Frau mit einem Lohn von 1,25 frs. bestreicht mit einem Pinsel 250—300 Stöcke am Tage. Die Gesamtkosten belaufen sich für 1000 Stück auf 9—10 frs. oder auf 30—35 fr. für den Hektar. Die Bestreichung mit dieser Emulsion geschah vor dem Erwachen der Vegetation und betraf den Stamm, sowie die Arme der Reben. Barbut berichtet ebenfalls von Versuchen, die in der Aude mit der genannten Emulsion im Jahre 1903—1904 an 2000 Stöcken ausgeführt worden sind. Auch sagt er, daß die Resultate durchweg gut und sicher waren.

#### Décortilage (écorçage).

Ein drittes Verfahren in der Winterbehandlung besteht in der Entfernung der Borke (décortilage, écorçage). Die Entfernung der Borke ist schon an und für sich eine Bekämpfungsmethode, welche man beständig üben sollte, da durch sie die verborgenen Insekten mehr exponiert oder mitsamt der Borke entfernt werden. Die Borke darf man am Weinstock nicht länger als höchstens 3 Jahre lassen. Das Verfahren unterstützt aber auch gleichzeitig die beiden vorausgehenden, da diese letzteren bei junger Borke wirksamer sind als bei alter, dicker Borke. Man kann daher eines der beiden ersten Verfahren mit dem Entfernen der Borke abwechseln lassen.

Zur Entfernung der Borke benutzt man die verschiedenen Instrumente, wie Metallbürsten (brosse métallique), Kratz- und Reibeisen (raclette, décortiqueur) oder Handschuhe (gant Sabatier), die nach der Art der Kettenpanzer gemacht sind. In neuerer Zeit hat man auch Bänder eingeführt, welche mit Stahlspitzen besetzt sind und an beiden Enden einen Griff haben. Der Arbeiter erfaßt das Band an den Griffen und reibt mit ihm an dem Rebstock. Für die Reinigung der Biegungen

und Knoten, welche von den sich verpuppenden Raupen von *C. ambiguella* besonders aufgesucht werden, muß man aber bei Anwendung dieses Instrumentes, wie bei dem folgenden, ein Kratzeisen zu Hilfe nehmen. Robert in Aiguesmortes hat sodann vor kurzem eine aus Ringen mit eckigen Kanten zusammengesetzte Kette eingeführt, die der Arbeiter gleichfalls an den beiden Enden anfaßt und mit der er an den Rebstöcken reibt. Es wurden nach Valéry Mayet mit diesem Instrumente 56 Hektar = 240 000 Stöcke entborkt. Es verlangen, nach demselben Gewährsmann, 7600 Stöcke 37 Arbeitstage zu  $7\frac{1}{2}$  Stunden pro Reibkette. Die Kosten für einen Hektar belaufen sich auf 83,96 frcs., wobei das Sammeln der abgeriebenen Borke miteinbegriffen ist, und auf 73 frcs. ohne das Sammeln der Borke. Die Entborkung der Stöcke im Winter 1902—1903 mit dieser Kette hatte als Resultat, daß die Ernte von  $18\frac{1}{2}$  auf  $37\frac{1}{2}$  hl pro Hektar stieg. Mit den anderen Entborkungsinstrumenten belaufen sich in der Gironde die Kosten nach Laborde auf 100—120 frcs. pro Hektar zu 10 000 Stöcken und für die Weinberge des „Palus“, in denen der Hektar nur 2500 Stöcke hat, auf 40—50 frcs. Nach Chauzit schwanken im allgemeinen, je nach dem Alter der Reben, die Kosten zwischen 45 und 70 frcs. pro Hektar.

Man empfiehlt gewöhnlich, soweit die Puppen der *C. ambiguella* und der *E. botrana* in Frage kommen, die abgeriebene Borke zu verbrennen und, soweit die überwinternden Raupen der *T. pilleriana* in Frage kommen, ist eine solche Vernichtung der Borke unerläßlich. Die kleinen Raupen würden sonst beim Eintritt der wärmeren Witterung die am Boden liegende Borke verlassen und sich anderwärts verstecken. Die genannten Puppen gehen aber wohl ohne Frage zu Grunde, wenn sie frei oder an der Borke sitzend auf den Boden fallen. Jedenfalls ist in dieser Hinsicht die Furcht der Winzer übertrieben. Schon 1890 hat C. Keller beobachtet, daß die Puppen von *C. ambiguella* zu Grunde gehen, welche sich am Stock in der Nähe des Bodens befinden. Laborde hat ferner Puppen unter eine Erdschicht von 5 cm gelegt. Sie starben sämtlich. Valéry Mayet legte Puppen auf feuchten Sand und bedeckte sie mit einer Drahtglocke. Im Laboratorium war die Sterblichkeit der Puppen 95 Proz. und im Freien 999 pro Mille. In beiden Fällen wurden die Puppen mit der Borke auf den Sand gelegt. Ich selbst habe ferner im Laboratorium hinsichtlich der Sterblichkeit analoge Erfahrungen gemacht. Wenn die nackten Puppen von *C. ambiguella* auf feuchtem Sand oder feuchtem Fließpapier lagen, so gingen sie alle an *Isaria farinosa* zu Grunde. Die in ihrem Cocon belassenen Puppen wurden aber oft, aber nicht immer durch den Cocon geschützt und gaben einen Schmetterling, auch wenn sie neben infizierten Puppen lagen. Es wäre möglich, daß der Schutz des Cocons chemischer Natur ist. Auf der anderen Seite habe ich in gewissen Sanden aus der Umgebung von Villefranche (Rhône) gewisse kleine Oligochäten beobachtet, welche sich in großer Menge um die auf dem feuchten Sande befindlichen Puppen sammelten und sie völlig ausfraßen.

Man hat schließlich noch die Entborkung der Rebstöcke durch die Einwirkung von Chemikalien auf die Borke ausgeführt. Sourdou in Marseillette (Aude) hat 3 Jahre lang im Herbst die Rebstöcke mit Salpetersäure gepinselt, welche mit 6 Volumen Wasser verdünnt war. Infolge dieser Behandlung zerfällt die Borke bald. Der genannte Gewährsmann hat sogleich im ersten Jahre sehr gute Erfolge gehabt. Die Reben wurden von allen unter ihrer Borke überwinternden Insekten be-

freit. In dem Jahre, welches der ersten Behandlung folgte, löste sich ein großer Teil der Borke ab und im zweiten Jahre waren die Stöcke ungefähr glatt. Ferner hat G. Couderc zur Entfernung der Borke Chlorcalcium benutzt und noch günstigere Resultate als mit Salpetersäure erhalten. Er führte seine Versuche an 20000 Stöcken aus.

#### Clochage (sulfurisation).

Das vierte im Winter gebrauchte Bekämpfungsverfahren wird als Clochage oder Sulfurisation bezeichnet und dient zur Vernichtung der unter der Borke überwinternden Räupchen von *T. pilleriana*. Wie schon der letztere Ausdruck bezeichnet, handelt es sich hier um Schwefelung. Man bedeckt den Rebstock mit einer Zinkglocke, unter der man Schwefel verbrennt. Nach 10 Minuten sind die Raupen getötet. Ein Arbeiter kann 20 Glocken handhaben. Da jede Glocke 10 Minuten auf der Rebe bleibt, so erfordern 6 Stöcke eine Stunde und 48 Stöcke 8 Stunden. Mit 20 Glocken kann der Arbeiter daher 960 Stöcke an einem Tage behandeln. Er stellt seine 20 Zinkglocken in gerader Linie auf, jede an der Seite eines Stockes. Auf jede Glocke setzt er ein cylindrisches, kasserollenartiges Gefäß, in das er einige Stücke Schwefel im Gewicht von 20—25 g legt und die er anzündet. Wenn der Schwefel in allen Gefäßen gut brennt, so stellt er das erste Gefäß an den Fuß des ersten Stockes und bedeckt diesen mit der daneben stehenden Glocke. Zu dieser Operation braucht er für 20 Glocken etwa 4 Minuten. Nachdem er die 20. Glocke auf den Stock gedeckt hat, geht er zur ersten Glocke zurück, nimmt eine 21. Schwefelkasserolle, stellt sie an den Fuß des ersten Rebstockes der nächsten Rebenreihe und, wenn seit Beginn der Operation 10 Minuten verflossen sind, nimmt er die erste Glocke von der ersten Rebe der ersten Rebenreihe und deckt sie auf die erste Rebe der zweiten Rebenreihe. In die bei der abgedeckten ersten Rebe der ersten Rebenreihe frei gewordene Kasserolle legt er 20—25 g Schwefel, zündet sie an und stellt die Kasserolle an den Fuß der zweiten Rebe der zweiten Rebenreihe und bedeckt diese mit der zweiten Glocke der ersten Rebenreihe. Dabei wird die zu dieser Glocke gehörende Kasserolle wieder frei, die er dann für die dritte Rebe der zweiten Rebenreihe benutzt u. s. w. Wenn er die 20. Glocke der ersten Rebenreihe abhebt, so bleibt ihm eine Kasserolle übrig, die er für die erste Rebe der dritten Rebenreihe verwendet. Die Expositionsdauer für eine Rebe darf nicht unter 8 und nicht über 10 Minuten sein. Man darf nicht nach Regen operieren und die Erde muß an der Oberfläche trocken sein, weil sonst die gasförmige schwefelige Säure von dem Wasser des Erdreiches absorbiert wird. Der Boden muß sandig sein oder vorher bearbeitet sein, damit die Glocken in ihn einschneiden und kein Gas entweichen lassen. Man darf ferner nicht mehr schwefeln, wenn die Reben bluten und die Knospen anfangen sich zu entwickeln. Aber andererseits ist es besser, nach dem Aufhören der großen Kälte zu operieren, wenn die Luft gelinde wird und die Raupen anfangen sich zu regen. Die Reben werden vorher geschnitten und die Pfähle, was im Winter in Frankreich überhaupt Brauch ist, herausgezogen. B. Chauzit gibt die Kosten auf 40 frs. pro Hektar an; J. Perraud für das Beaujolais auf 67,50 frs. und Coste-Floret für das Département de l'Hérault auf 33,30 frs. Die Schwefelung hat ihre Heimat besonders im Süden, wo man sie im Gard seit mehr als 20 Jahren anwendet.

### Behandlung der Rebpfähle (échalas).

Die Borke der Rebe ist nicht der einzige Ort, an dem die Puppe von *C. ambiguella* und von *E. botrana* sowie die Raupe von *T. pilleriana* den Winter verbringt. Diese Organismen verbergen sich vielmehr zu dieser Jahreszeit auch in den Spalten der Rebpfähle (échalas), soweit solche in Frankreich im Gebrauche sind. Dieses ist besonders im Norden und Osten und zum Teil im Südosten und im Centrum der Fall, während in den wärmeren Strichen mehr Draht zur Anwendung kommt oder man die Reben sogar ohne Stütze wachsen läßt. In der Champagne ist eine dieser Gegend eigentümliche Erziehungsart, welche man *bêchage* nennt, gebräuchlich. Im März-April beschneidet man die Reben und läßt ihnen 3—4 Augen. Man pflügt darauf nach dem Schnitt und bringt dabei den Rebstock unter die Erde. Nur das Holz des letzten Jahres mit seinen 3—4 Augen bleibt frei. Unter solchen Umständen fehlen für die Raupen oder Puppen die Schlupfwinkel unter der Borke gänzlich und die Spalten der Rebpfähle sind dann um so mehr von diesen Organismen bewohnt. Daher geschieht es auch, daß man sich in der Champagne mehr als anderwärts, wenn man von der Bourgogne absieht, mit dem Desinfizieren der Rebpfähle beschäftigt.

Zu einer solchen Desinfizierung benutzt man erstlich erhöhte Temperatur. Das primitivste Verfahren bestand darin, daß man die Rebpfähle in einen geheizten Backofen schob. In neuerer Zeit hat man jedoch in Burgund und zumal in der Champagne besonders konstruierte, geräumige Recipienten auf Rädern angewandt, in die die Rebpfähle geschoben werden und die aus einem fahrbaren Dampfapparat mit heißem Dampf gespeist werden. Die Expositionszeit ist 20 Minuten bei 100°. Diese Operation wird in der Champagne jährlich in mehreren Gemeinden ausgeführt. Sie hat aber die Nachteile, daß die Apparate nur auf breiten Wegen fortgeschafft werden können, daß also die Pfähle herbeigetragen werden müssen und daß, ganz abgesehen von den hohen Preisen der Maschinen, die Kosten bedeutend sind. Sie stellen sich nämlich nach G. Couanon auf 249 frcs. pro Hektar. Man hat daher zum Clochageverfahren oder Schwefelung gegriffen. Die Pfähle werden zu Haufen zusammengelegt, mit einem großen Kasten aus Eisenblech bedeckt und unter diesem Kasten wird Schwefel verbrannt. Die Expositionsdauer beträgt nach den Angaben von Couanon 40 Minuten. Man benutzt Schwefelbänder, wie man sie zum Schwefeln der Fässer gebraucht. Ein einzelnes solcher Bänder enthält 550—600 g. Es sind 320—325 Bänder pro Hektar nötig. Die Kosten stellen sich für 1 ha auf 100 frcs.

Man kocht ferner bisweilen die Pfähle in großen Kesseln ab, wobei man die Pfähle zuerst mit einem Ende und dann mit dem anderen in das Wasser steckt. J. Laborde empfiehlt das Anstreichen mit folgender energisch wirkenden Flüssigkeit:

Steinkohlenteeröl	10	kg
Oelsäure der Stearinfabriken	2	"
Kaustische Soda	0,5	"
Wasser	90	l

Man mischt das Steinkohlenteeröl und die Oelsäure und man gießt die Mischung in das Wasser, in dem man die kaustische Soda gelöst hat. Man erhält durch Umrühren eine sehr beständige Emulsion, die man mit dem Pinsel auf die Pfähle bringt. Man kann dieselbe auch in die Lösung tauchen. Wenngleich die Mischung sehr kräftig wirkt, so könnte man sie nach Labordes Ansicht doch, wie schon oben erwähnt, zur

Zeit des Erwachens der Vegetation auch für das Bestreichen (badigeonnage) der Reben benutzen.

## II. Sommerbehandlung (traitement d'été).

### Pièges lumineux (papillonnage).

Während des Anfangs der guten Jahreszeit kommen aus den überwinternden Puppen von *C. ambiguella* und *E. botrana* die Schmetterlinge der ersten Generation aus, aus denen dann im Sommer die zweite Generation entsteht. Ebenso liefern die überwinternden kleinen Raupen von *T. pilleriana* im Sommer die Schmetterlinge dieser Art. Ein altes Bekämpfungsmittel gegen die Schmetterlinge der drei Mikrolepidopteren ist das Fangen (papillonnage) derselben mit Lampen (pièges lumineux). Die frühesten Angaben für dieses Verfahren sind von Abbé Roberjot (1787) und später von Audouin gemacht worden. Von den Schmetterlingen von *C. ambiguella* und *E. botrana* lassen sich nur die ersteren mit Licht fangen, da die letzteren in der Dunkelheit nicht fliegen. Diese fangen an zu fliegen gegen 4—5 Uhr nachmittags und setzen den Flug bis zur Dämmerung fort. Bei Anbruch des Tages kommen sie mit der Morgendämmerung zum Vorschein und verbergen sich von neuem gegen 8—9 Uhr. Sie fliegen aber des Nachmittags stärker als in den frühen Morgenstunden. Die Lampen, welche für die *C. ambiguella* benutzt werden, sind entweder gewöhnliche Stalllaternen oder die von F. Bouffard (Château-Pavie, St.-Emilion) konstruierten Falots bordelais. Diese letzteren bestehen aus einem mit Essenz gefüllten Lämpchen, einem Plateau aus Blech, auf dem das Lämpchen steht, und einem Drahtgestell, in dessen Mitte sich das Lämpchen befindet und auf das eine mit Leim bestrichene Papierhülse gestreift ist. Ein günstiges Ergebnis hängt für den Fang von verschiedenen äußeren Umständen ab. Die Nacht muß dunkel, windstill und warm sein. Meist sind zur Zeit der ersten Generation selbst bei dem milden Klima Frankreichs die Nächte noch nicht warm genug, so daß man das Fangen der Schmetterlinge mittelst Lampen meist auf den Sommer, für die zweite Generation, verschiebt. Die verschiedenen Beobachter stimmen darin überein, daß man die Lampen möglichst wenig entfernt vom Boden aufstellen muß, und manche geben an, daß sie mit auf dem Boden stehenden Lampen die besten Resultate erhalten haben. Es scheint sich auch zu empfehlen, die Zahl der leuchtenden Punkte nach Möglichkeit zu vermehren, selbst auf Kosten ihrer Leuchtkraft. Oft werden, um den Anfang des Fluges zu kennen, Puppen im Zimmer und im Freien in Schachteln aufbewahrt oder von Raupen bewohnte junge Trauben oder Blüten werden mit einem Gazesäckchen umgeben. Das Auskommen der Schmetterlinge in diesen Käfigen zeigt dann dem Winzer den Augenblick an, in dem die Lampen anfangen müssen zu funktionieren. Zu dem gleichen Zwecke stellt man Probelampen (lanternes-témoins) auf. Es wird aber von Laborde geraten, mit dem Fange so lange zu warten, bis man in den Lampen die größte Zahl der mit Eiern versehenen Weibchen erhält, da sonst die Kosten im Verhältnis zum Gewinn zu groß sind. Was die Zahl der Lampen, die Zahl der gefangenen *Cochylis*-Schmetterlinge und die Kosten des Verfahrens angeht, so lauten über diese Punkte die Angaben je nach der Gegend und den Verhältnissen, unter denen die Arbeiten ausgeführt werden, verschieden. Nach Laborde (Gironde) werden 10 Stalllaternen auf je 1 ha aufge-

stellt. Der Zwischenraum zwischen den Laternen beträgt 50 m in der Richtung der Reihen der Reben und 20 m in der darauf senkrechten Richtung. Die Kosten sind kaum höher als 15—20 frcs. pro Hektar. Nach F. Boyer de la Giroday werden in der Gironde in den Palus-Weinbergen, in denen die Reben hoch sind, 10 Lichtpunkte pro Hektar und in den Grave-Weinbergen 5 Lichtpunkte pro Hektar aufgestellt. Der Weinberg von La Maqueline (Gironde), welcher eine Fläche von 120 ha besitzt, wurde von dem Direktor David im Juli 1901 durch insgesamt 1200 Laternen verteidigt. Für die Jahre 1898—1900 erhielt derselbe Experimentator die folgenden Resultate:

Datum	Zahl d. gefang. Schmetterlinge	Bemerkungen
1898 9.—30. Juli	62 400	Vom 13.—26. brannten 100 Laternen; vom 26. ab fügte man 200 Falots hinzu
1899 3.—19. „	44 034	Vom 3.—11. brannten 860 Laternen oder Falots; vom 11.—20. fügte man 1025 Falots hinzu
1900 10.—31. „	80 000	In allen Nächten brannten 1200 Laternen

Die Zeit des Fanges war dieselbe für das erste und dritte Jahr, während sie im zweiten Jahre abwich. Dasselbe gilt für die Dauer des Fanges in diesem Jahre und ebenso für das Datum, an dem man das Maximum der erbeuteten Schmetterlinge erreichte (1898 am 20., 1899 am 8., 1900 am 22. Juli). Diese Erscheinungen können, wie Laborde bemerkt, zusammenhängen mit dem früheren oder späteren Auskommen der Schmetterlinge im Frühjahr, mit einer schwächeren Invasion oder auch mit einem regelmäßigeren und kürzeren Auskommen dieser Insekten. Nach C. Mestre wurden auf Chateau-Pavie (St.-Emilion, Gironde) vom 19.—31. Juli 1898 mit 225 Lampen 56 000 Schmetterlinge erbeutet oder im Mittel 3080 pro Nacht. Nach demselben Autor fing man auf Château de Claix (Charente) 80 000 Schmetterlinge in 10 Nächten mit 150 Falots. Nach Mège wurden im Var in 1899 200 Schmetterlinge pro Lampe gefangen. G. Couanon macht für die Versuche im Jahre 1900 in Bouzy (Marne, Champagne) folgende Angaben. Es waren auf 20 ha 100 Falots aufgestellt und brannten von Mitte Juli bis Anfang August 20 Nächte hindurch. Man erhielt oft mehr als 400 Schmetterlinge pro Nacht und pro Falot. Die Kosten betrugen im ganzen 5000 frcs. oder 5 frcs. pro Falot für die ganze Fangdauer oder 25 cents. pro Nacht. Albert Laurent teilt für die im Juli 1900 in der Vallée du Grésivaudan bei Grenoble gemachten Fangversuche folgende Zahlen mit: Weinberg von mehr als 22 ha, 157 Falots, 8 Tage Fangzeit, 60 000 erbeutete Schmetterlinge. Bei 10 Falots pro Hektar und 12 Fangtagen betrugen die Kosten 21,35 frcs. pro Hektar.

Was die Wirksamkeit des Fangens der Schmetterlinge mit Lampen angeht, so stellt Laborde über dasselbe folgende Betrachtungen an. Nach den oben aufgeführten, von David für La Maqueline mitgeteilten Resultaten für die Zeit vom 10.—31. Juli 1900 waren auf den 120 ha mit 1200 Lampen 80 000 Schmetterlinge gefangen. Der Fang war so gut organisiert, daß man die Anzahl von Schmetterlingen als die Gesamtzahl der in dem Weinberge zur Zeit existierenden Individuen ansehen konnte. Diese Zahl von 80 000 Schmetterlingen entspricht einer Raupe auf je 3 Stöcke im Frühjahr. Trotz dieses Wegfangens der Schmetterlinge konnte man aber im August bald nach dem Auskommen der Raupen 5—10 Würmer pro Stück feststellen, was einer Anzahl von 1 200 000 Raupen im ganzen Weinberge entsprach. Ferner hat Laborde die im Jahre 1901 von David gefangenen Schmetterlinge täglich unter-

sucht, wobei er 60 Proz. Männchen und 40 Proz. Weibchen fand und ist dabei über die Wirksamkeit des Fangens der Schmetterlinge von *C. ambiguella* zu folgenden Schlüssen gelangt. Es waren auf 120 ha mit 1200 Lampen vom 7.—24. Juli in runder Zahl 100 000 Schmetterlinge gefangen. Das Maximum der Wirksamkeit des Fanges würde selbstverständlich durch das Wegfangen sämtlicher Weibchen vor der Eiablage erreicht sein. Es befindet sich aber in der Gesamtzahl der gefangenen Schmetterlinge nur eine kleine Anzahl solcher Weibchen. Diejenigen Weibchen jedoch, welche noch einige Eier besitzen, können nicht gänzlich vernachlässigt werden. Wenn man nun annimmt, daß sie  $\frac{3}{4}$  von ihren Eiern abgelegt haben — in Wirklichkeit wird das Verhältnis wohl günstiger sein —, so ist ein Schmetterlingsweibchen, welches alle seine Eier besitzt, gleichwertig 4 Schmetterlingsweibchen mit  $\frac{1}{4}$  ihrer Eier. Im Mittel wurden nun 8,5 Proz. Weibchen der ersten Kategorie und 14,7 Proz. Weibchen der zweiten Kategorie gefangen und sämtliche gefangenen Weibchen betrugen den Männchen gegenüber 40 Proz. Demnach entsprechen 40 Stück irgend welcher Weibchen  $8,5 + \frac{14,7}{4} = 12,3$  Weibchen mit allen Eiern. Dieses ergibt einen Pro-

zentsatz von  $\frac{12,3 \times 100}{40} =$  ungefähr 31 Proz. Weibchen mit allen Eiern.

Dieser Wert würde die Wirksamkeit des Fangens ausdrücken. Von den 100 000 gefangenen Schmetterlingen waren 40 Proz. oder 40 000 Stück Weibchen und diese entsprechen 12 300 Weibchen mit allen Eiern, welche ungefähr 496 000 Raupen gegeben hätten. Da die Gesamtkosten des Fangens sich auf 1600 frcs. beliefen, so hat nach dieser Berechnung die Zerstörung von 310 Raupen 1 frcs. gekostet, was sehr hoch ist.

Was das Fangen der Schmetterlinge des Springwurmes (*T. pilleriana*) mittels Lampen angeht, so ist diese Methode wohl hauptsächlich im Mâconnais und im Beaujolais, den Gebieten zwischen der Bourgogne und Lyon, geübt worden, welche das klassische Land dieses ampelophagen Insektes darstellen. Die Berichte über diesen Gegenstand sind aber nicht sehr zahlreich. Genauere Angaben sind gemacht worden von J. Perraud, sowie von Gastine-Vermorel und mir. Der oben genannte Abbé Roberjot (1787) hat zuerst auf die Anwendung von Licht zur Vernichtung des Schmetterlinges hingewiesen. Er riet, in den Weinbergen während einiger Stunden Holzfeuer anzuzünden. Später hat dann die Société d'agriculture de Lyon in einem Bericht über diese Methode den Rat gegeben, die Holzfeuer durch eine Lampe, welche über einer mit Wasser gefüllten Wanne hänge, zu ersetzen. Die Schmetterlinge würden in das Wasser fallen und ertrinken. Audouin hat diese Idee aufgenommen und im Mâconnais im Jahre 1837 Versuche mit Lampen angestellt. Er nahm 200 Schalen, welche mit einer Oelschicht bedeckt waren, und setzte auf diese ein Licht. Am Abend des 6. August wurden sie auf  $1\frac{1}{2}$  ha verteilt im Abstände von 8 m. Die Lichte brannten 2 Stunden. Auf jedem Fangapparat wurden im Mittel 150 Schmetterlinge oder im ganzen 30 000 Schmetterlinge erbeutet. Am 7. August erhielt er mit 150 Apparaten 14 400 Schmetterlinge von *T. pilleriana*. Perraud gibt die Kosten für einen Sommer und pro Hektar auf 51,70 frcs. an.

Bei den von Gastine-Vermorel und mir herrührenden und in der Station von Villefranche (Rhône) gemachten Versuchen wurde ausschließlich die Vermorelsche Acetylenlampe „Méduse“ gebraucht. Die

Lampe besteht aus einem Fuß, in dem sich der Gaserzeuger befindet; einem darauf ruhenden, flachen Becken, das mit Wasser gefüllt ist, welches von einer Petroleumschicht bedeckt ist, und einem in der Mitte des Beckens befindlichen Brenner. Die Versuche wurden in den Jahren 1901—1903 während einer großen Springwurminvasion ausgeführt. Im Sommer 1901 dauerte das Experiment vom 13./14. bis zum 30./31. Juli. Die Anzahl der Lampen, welche während dieser Zeit funktionieren, war für die verschiedenen Nächte verschieden. Zählte man alle Lampen, die in je einer Nacht angezündet waren, zusammen, so erhielt man 160 Lampen (Nächtelampen). Und diese ergaben 177550 Schmetterlinge. Man erhielt also 1100 Schmetterlinge pro Lampe und Nacht. Um die Zahl der Schmetterlinge zu bestimmen, wurden sie von Gastine in einer graduierten Eprouvette gemessen, nachdem man vorher festgestellt hatte, daß 100 Schmetterlinge  $4\frac{1}{2}$  ccm repräsentieren. An je zwei Proben, die jeden Tag dem Fange entnommen wurden, stellte ich den Prozentsatz der Geschlechter fest, welcher sich im Durchschnitt auf 58 Weibchen und 42 Weibchen belief. Laborde machte in seinen oben erwähnten Darlegungen darauf aufmerksam, daß merkwürdigerweise die Prozentzahlen, welche er für *C. ambiguella* erhalten hat, fast identisch mit denen sind, welche ich für die Geschlechter von *T. pilleriana* gefunden hatte. Im Jahre 1902 war die Ausbeute in Uebereinstimmung mit der Abnahme der Invasion bereits geringer. Zur Bestimmung der Zahl der gefangenen Springwurmmotten hatte dieses Mal Gastine die Insekten gewogen, nachdem er vorher festgestellt hatte, daß 100 Schmetterlinge 4 g wogen. Die Versuche erstreckten sich vom 8./9. Juli bis zum 11./12. August. Man erhielt für diese Dauer des Experimentes 18 kg 650 g Schmetterlinge = 466000 Stück bei 1817 Nächtelampen, was 250 Schmetterlinge pro Nacht und Lampe ausmacht. Mit der weiteren Abnahme der Invasion sank im Jahre 1903 die Ausbeute noch mehr. Dieselbe wurde von mir nach verschiedenen Richtungen hin analysiert. Das Experiment dauerte vom 25./26. Juli bis zum 5./6. September. Es brannten im allgemeinen 20 Lampen pro Nacht. Im ganzen erhielt man mit 714 Nächtelampen 32474 Schmetterlinge, deren Zahl durch Zählung festgestellt wurde, oder 45,4 Schmetterlinge pro Nacht und pro Lampe. Die Prozentzahl der Männchen betrug jetzt im Mittel 82,83 und die der Weibchen dieses Mal nur noch 17,15. Unter den Weibchen wurden zwei Kategorien unterschieden: solche, die mit Eiern erfüllt waren (I), und solche, welche nur noch wenige Eier enthielten oder schon abgelegt hatten (II). Die Prozentzahl der Summe aller Weibchen I war, auf die Zahl aller Weibchen berechnet, 36,89 und die der Weibchen II, gleichfalls auf die Zahl aller Weibchen berechnet, 63,10. Es kamen auf den Gesamtfang von 32474 Schmetterlingen nur 2821 Weibchen der ersten Kategorie. In den Ziffern der verschiedenen für die Analyse des Gesamtfanges aufgestellten Rubriken ließ sich ein periodisches Sinken und Steigen feststellen. So in der Zahl der gefangenen Schmetterlinge, Männchen und Weibchen zusammen, und in der Zahl der Weibchen und der Männchen. Die Prozentzahlen der Weibchen nahmen aber in der Gesamtheit der Fänge zu, während die der letzteren abnahmen, so daß sich die beiderseitigen Prozentzahlen einander und der Zahl 50 näherten. Was die Weibchen I und II angeht, so sind anfangs die Prozentzahlen der Weibchen I größer als die der Weibchen II. Gegen den Schluß hin findet aber das umgekehrte Verhältnis statt und die Prozentzahlen der Weibchen I erreichen schließ-



lich die Zahl 0 und die der Weibchen II die Zahl 100. Es scheint dieses damit zusammenzuhängen, daß anfangs die frisch ausgekommenen Weibchen die Eier weniger schnell ablegen, länger im Leibe behalten als später. Die Wärme der Jahreszeit steht aber damit in keinem Zusammenhange, da der Anfang des Experimentes in den Juli und das Ende desselben in den September fiel.

### Ecrans englués.

In Deutschland, besonders im Rheingau, ist das von Oberlin (Colmar) in Aufnahme gebrachte Verfahren, die Schmetterlinge der *C. ambiguella* mit Klebfächern (écrans englués) zu fangen, sehr beliebt. Es besteht darin, daß am Tage die aufgescheuchten Schmetterlinge mit Fächern gefangen werden, welche mit Fliegenleim bestrichen sind. Die Fächer stellen ein viereckiges Stück starkes Drahtnetz oder ein Stück Blech dar, an dem auf der einen schmalen Seite ein hölzerner Griff befestigt ist. Die Jagd wird in Deutschland mit Schulkindern betrieben, welche die aufgescheuchten Schmetterlinge im Fluge mit dem Fächer erhaschen, auf dem sie kleben bleiben. Diese Art von Fang ist den französischen Verhältnissen, ich möchte sagen, dem französischen Charakter wenig konform und wird daher wohl kaum in Frankreich geübt. Schon die Benutzung von Schulkindern zu solchen Zwecken würde in jenem Lande nicht Beifall finden. Mir ist nur ein Fall bekannt geworden, in dem man die Fächer für Versuchszwecke angewandt hat. Es war dies in der Gironde auf Chateau Carbonnieux. Hier bezog sich der Versuch auf die Schmetterlinge von *E. botrana*.

### Insecticides.

Wir gelangen nun zu solchen Verfahren, welche die Vernichtung der Raupen von *C. ambiguella* und *E. botrana* während der Sommerbehandlung zum Zwecke hat.

Schon seit längerer Zeit hat man erkannt, daß ein Tropfen Oel oder eine geringe Menge dieser Substanz auf die Raupen der *C. ambiguella* gebracht (injection), diese schnell tötet. Man bedient sich dazu eines Glasröhrchens, welches den Kork eines Oelfläschchens durchbohrt, oder eines Maschinenölers. Es werden für die Zusammensetzung der Flüssigkeit verschiedene Formeln angegeben: z. B. weiche, schwarze Seife 70 g, Rübsamenöl 45 g, Lavendelöl 75 g, Wasser 1 l (J. B. Poulin). In anderen Fällen wandte man nur Olivenöl oder Rübsamenöl an. Max Tord teilte ferner folgende Formel mit: Leinöl 80, Tabakextrakt des Handels 20. Die mit reinen Oelsorten oder mit Oelmischungen angestellten Versuche ergaben alle nach der übereinstimmenden Angabe der Berichterstatter sehr gute Resultate. Dieses Verfahren ist aber immer auf einzelne Versuche beschränkt geblieben. Es erfordert so viel Zeit und Arbeitskraft, daß es im großen kaum anwendbar ist.

Das Hauptstreben in Frankreich geht dahin, die ampelophagen Mikrolepidopteren, besonders *C. ambiguella* und *E. botrana*, im Raupenzustande mit Flüssigkeiten zu töten, welche nach Art der Kupferbrühen mit Rebenspritzen verspritzt werden (pulvérisation). Die Raupen von *T. pilleriana* eignen sich nicht so gut für solche Bekämpfungsart, da sie sich in den zusammengefalteten Blättern aufhalten. Eine solche Bestrebung kommt wohl daher, daß der Gebrauch der Reben-

spritzen bereits so sehr in die breiten Schichten der weinbauenden Bevölkerung gedrungen ist, daß die Anwendung von Spritzflüssigkeiten als die einfachste und praktischste Lösung des Problems der Bekämpfung der ampelophagen Mikrolepidopteren erscheint. Im ganzen kommen zwei verschiedene Arten von Spritzflüssigkeiten in Betracht, welche in Frankreich eine weitergehende Anwendung gefunden haben. Es sind dieses die Dufoursche Flüssigkeit und die Flüssigkeiten, welche von Audebert einerseits und von Laborde andererseits erfunden worden sind. Die Dufoursche Flüssigkeit, welche sich zusammensetzt aus: Wasser 100 l, schwarze, weiche Seife 3 kg, Insektenpulver 1 kg, und die auch in anderen Ländern, z. B. in Deutschland, Anwendung gefunden hat, kann jetzt wohl als aufgegeben betrachtet werden, da sie in ihren Resultaten zu unsicher ist. Man schreibt die Mißerfolge gewöhnlich der oft minderwertigen Qualität des Insektenpulvers zu.

Die Flüssigkeit von Audebert hat folgende Zusammensetzung:

Schwefeläther	1	kg
Absinthessenz	0,150	„
Ammoniakalische Kupferlösung	0,850	„
Kolophonium	1,500	„
Kohlensaures Natrium	1,500	„
Wasser	95	„

Diese Mutterlösung wird 20mal verdünnt. Jede Blüte wird einzeln in ein Gefäß oder eine weithalsige Flasche mit der Flüssigkeit getaucht (trempe). Die Audebertsche Flüssigkeit fand wohl bisher weniger Anwendung als die einfachere Laborde'sche Flüssigkeit. Aber der Gebrauch beider Flüssigkeiten scheint sich über die Gironde hinaus nicht sehr verbreitet zu haben. Die von Laborde ursprünglich angegebene Formel ist von diesem mehrmals modifiziert worden, um ihr eine größere Wirkung zu verleihen. Sie tötet besonders die Raupen von *E. botrana*, während sie gegen die Raupen von *C. ambiguella* weniger kräftig wirkt. In der letzten Publikation (1904) gibt Laborde der Flüssigkeit folgende Zusammensetzung: Kiefernharz (gemme de pin) 15 kg, kaustische Soda (à chaux) 2 kg, Ammoniak 8 kg, Kupferacetat (verdet gris) 1 kg, Wasser 74 l. Das Kiefernharz kann auch durch Kolophonium ersetzt werden, wenngleich dieses der Angabe Laborde's zufolge etwas weniger wirksam ist. Ammoniak und Soda dienen dazu, der Flüssigkeit ein schnelleres und leichteres Eindringen in das in der Blüte befindliche Gewebe zu verleihen. Das Kupferacetat (verdet gris) dient zur gleichzeitigen Bekämpfung der Pilzkrankheiten. Es darf aber nicht in zu hohen Proportionen angewandt werden, da es auf das Harz koagulierend wirkt. Zur Bereitung der Flüssigkeit legt man das Fichtenharz in einen Kessel aus Kupfer oder Gußeisen. Man erhitzt und knetet das flüssig gewordene Harz. Dann gießt man auf dasselbe eine Lösung von 2 kg kaustischer Soda in 35 l Wasser und erwärmt bis zur völligen Lösung. Man hört mit dem Erwärmen auf, fügt 40 l Wasser hinzu und mischt gründlich. Man siebt und zerdrückt die noch ungelösten Harzstücke. Nachdem sich die Flüssigkeit auf 30° abgekühlt hat, fügt man die Hälfte des Ammoniaks hinzu und nach starkem Umrühren die andere Hälfte, in der man vorher 1 kg Kupferacetat gelöst hat. Die schließlich erhaltene Flüssigkeit ist blau und syrupähnlich. Man verwendet von dieser ursprünglichen Flüssigkeit eine Verdünnung von 10—15 Proz. Die erstere Konzentration (10 Proz.) wird bei schönem, warmem, trockenem Wetter benutzt; die zweite (15 Proz.)

bei kaltem und feuchtem Wetter. Man erhält für *E. botrana* eine Sterblichkeit von 90 Proz. Die Sterblichkeit für *C. ambiguella* ist geringer, selbst wenn man die Verdünnung auf 15—20 Proz. erhöht. Man kann die Flüssigkeit in zweierlei Weise auf die Gescheine (Blüten) bringen: durch Eintauchen (*trempage*) dieser in die Flüssigkeit, welche sich in einem Gefäß befindet, oder durch Verspritzen (*pulvérisation*) der Flüssigkeit mit der Rebenspritze. Wenn es regnet, ist die letztere Methode (*pulvérisation*) dem Eintauchen (*trempage*) vorzuziehen, da die Blüten der Flüssigkeit viel Wasser mitteilen und es auch in die Gefäße regnet, so daß die Flüssigkeit eine zu große Verdünnung erfährt. Um die Flüssigkeit auf die Blüte bequem spritzen zu können und um nicht zu viel von derselben zu verlieren, hat Laborde eine besondere Lanze (Endstück am Schlauch) konstruiert. Diese Lanze hat die Form einer Gabel, welche die Blüte in die Mitte nimmt und aus zwei an den Enden und im Inneren der beiden Arme der Gabel gelegenen Oeffnungen die Flüssigkeit entleert. Eine andere Lanze ist zu dem gleichen Zwecke von Vermorel konstruiert und trägt einen Knopf als Unterbrecher, auf den man jedesmal drückt, um die Flüssigkeit auf die Blüte zu senden. Obgleich es scheinen könnte, daß das Spritzen sich viel schneller ausführen lasse als das Eintauchen, so ist die Schnelligkeit des ersteren bei sorgfältiger Arbeit doch nur  $1\frac{1}{2}$ mal größer als die des letzteren. Für das Eintauchen braucht man 4 hl Flüssigkeit pro Hektar von 10000 Stöcken; für das Bespritzen 2—4mal soviel. Das erstere Verfahren kostet 35 frcs., das zweite 70 frcs. pro Hektar. Die Anwendung der Flüssigkeit ist auf die Periode der vollen Blüte beschränkt und die Behandlung muß in etwa 10 Tagen ausgeführt sein. Je jünger die Raupen sind, desto größer ist die Wirkung. Für die Blüte ist die Flüssigkeit unschädlich. Es ist aber ratsam, bei jeder Behandlung zuerst ein Probeputzen für wenige Reben auszuführen. G. Martin hat mit dem Mittel 3 Jahre lang 789000 Stöcke mit gleich gutem Erfolg behandelt (1904).

Seit kurzem macht sich in Frankreich die Tendenz geltend, arsenhaltige Flüssigkeiten für die Behandlung der ampelophagen Mikrolepidopterenraupen zu verwenden. Der Vorteil dieser Methode liegt auf der Hand. Die Raupen gehen infolge ihrer vergifteten Nahrung zu Grunde. Man braucht daher auf das Eindringen der Flüssigkeit in das Gewebe, sowie auf später auskommende Raupen kein Gewicht zu legen und ein- bis zweimaliges Bespritzen würde genügen. Auf die Anwendung arsenhaltiger Flüssigkeiten ist man in Frankreich wohl von zwei Seiten her gewiesen. Erstlich finden seit längerer Zeit schon Flüssigkeiten dieser Art in Amerika bei der Behandlung der Obstbäume große Verwendung und ferner bedient man sich derselben in Algier ebenfalls seit längerer Zeit gegen die *Haltica ampelophaga*, die „Altise“ der Rebe. Dieser Käfer richtet aber auch schon auf dem französischen Festlande Schaden an und ist z. B. in der Gegend von St. Etienne zur Kalamität geworden. Er scheint immer mehr nach Norden vorzudringen. Als ich im Jahre 1900 an die Station von Villefranche (Rhône) kam, war er dort in der Umgegend wenig beobachtet; als ich dann aber im Winter 1904/5 die Station verließ, hatte sich das Insekt stellenweise sehr stark angesiedelt.

In Frankreich hat bereits vor längerer Zeit Grosjean arsenhaltige Brühen oder Pulver für die erste Generation von *C. ambiguella* empfohlen und auch Laborde hat bereits im Jahre 1901 Laboratoriumsversuche nach dieser Richtung veröffentlicht. Von den verschiedenen von ihm

versuchten arsenhaltigen Substanzen hat die Bouillie bordelaise au savon arsenical die besten Erfolge gegeben, da sie keinen schädlichen Einfluß auf die Blüte hatte und die Raupen tötete.

#### E t u v a g e.

Es sei hier noch eines Sommerbehandlungsverfahrens gegen die Raupen von *T. pilleriana* gedacht, welches, auf meinen Beobachtungen über das vitale Temperaturmaximum bei den Raupen von *C. ambiguella* und *T. pilleriana* basiert, von Gastine und Vermorel im Jahre 1902 in der Station in Villefranche (Rhône) im großen zur Ausführung gebracht worden ist. Ich hatte gefunden, daß für die erwähnten beiden Raupenarten 45° C einen Temperaturpunkt bilden, der auf das Leben der Raupen einen entschieden verhängnisvollen Einfluß hat. 10—15 Minuten bei 45° C genügen, um die Raupen entweder zu töten oder sie in einen Zustand zu versetzen, in dem sie dahinsiechen und der in wenigen Tagen zum Tode führt. Gastine und Vermorel haben dann aus Zinkblech einen radförmigen Kasten von 1 cm Höhe konstruiert, der einen radialen Einschnitt besaß. In diesem Einschnitt des auf dem Boden liegenden Kastens wurde das untere Ende des Stammes der Rebe hineingeschoben, so daß der Stamm im Zentrum des Kastens zu liegen kam. Die obere Seite des Blechkastens war mit feinen Löchern durchbohrt, aus denen heißer Wasserdampf hervordrang. Dieser letztere wurde in den Kasten mittelst eines Schlauches aus einem gewöhnlichen tragbaren Dampfkessel (chaudière) geleitet. Der radförmige Kasten wurde darauf mit einer konischen Blechglocke überdeckt, unter der dann die Rebe zu stehen kam. Wenn das am oberen Ende der Glocke angebrachte Thermometer 50—52° C im Maximum anzeigte, so wurde der Dampf abgestellt. Man ließ ihn 3—4 Minuten auf die Rebe wirken. Die Raupen von *C. pilleriana* kamen sogleich aus den zusammengerollten Blättern hervor und fielen auf den radförmigen Kasten und gingen unfehlbar zu Grunde. Andere Exemplare waren auf den Blättern getötet. Man sah in den stark heimgesuchten Weinbergen die Raupen bei einem einzigen behandelten Stock zu Hunderten auf dem Blechkasten liegen. Diese Versuche haben wohl teilweise zu den auf p. 452 erwähnten neuen Methoden in der Winterbehandlung der Stöcke geführt.

#### Ramassage; échenillage; triage des raisins.

Wir kommen schließlich zu der letzten Bekämpfungsart, nämlich zu der, bei welcher die verschiedenen Stände der Schmetterlinge durch Handarbeit, d. h. durch Sammeln (ramassage; échenillage) und Auslesen der Beeren (triage des raisins), vernichtet werden. Diese Art der Vernichtung wird im allgemeinen in Frankreich wenig und nur in den Gegenden, die wertvolle Weine liefern (z. B. Gironde) geübt. Zunächst handelt es sich um die Eier der Schmetterlinge. Man kann natürlich nicht daran denken, die Eier von *C. ambiguella* und *E. botrana* zu sammeln, da dieselben einzeln auf den Blüten oder den Beeren abgelegt werden und ihr Auffinden mit Schwierigkeiten verknüpft ist. Anders steht es mit den Eiern von *C. pilleriana*, die in platten Eigelegen von 50—60 Eiern auf der Oberfläche der Rebenblätter abgesetzt sind und deshalb leicht wahr-

genommen werden. Da aber die Eiablage 30—40 Tage dauern kann, so muß man denselben Weinberg alle 8—10 Tage absuchen („éponter“ von la ponte) bis zu dem Augenblick, in dem die Schmetterlinge verschwinden. Diese Methode war gegen 1837, als sie von Audouin empfohlen wurde, die sicherste und praktischste. Seitdem hat man aber durch das Echaudage-Verfahren das Einsammeln der Gelege ersetzt. Für kleine Besitzer wird es sehr gelobt; es eignet sich aber weniger für ausgedehnte Weinberge. Ein Arbeiter kann 1—2000 Gelege an einem Tage sammeln. Nach Audouin können 30 Frauen oder Kinder in 11 Tagen 1134000 Gelege sammeln, welche 68040000 Raupen repräsentieren. Für das Mâconnais hat man berechnet, daß die Kosten für ein wiederholtes Einsammeln der Gelege 135 frs. pro Hektar betragen.

Das Sammeln und Vernichten der Raupen (échenillage) kann sich auf die in den zusammengerollten Blättern befindlichen Raupen von *T. pilleriana* oder auf die sich in den Blüten aufhaltenden Raupen von *C. ambiguella* und *E. botrana* beziehen. Beides wird in Frankreich nicht sehr viel geübt. Wenn die jungen Raupen von *T. pilleriana*, welche den Winter unter der Borke zugebracht haben, im Frühjahr erwachen und auf die Reben kriechen, setzen sie sich zunächst in den kleinen, noch wenig entfalteten Blättern fest. Man kann daher die obersten 3—4 Blättchen der Triebe abkneifen (pincement des bourgeons) und sie zusammen mit den Räumchen vernichten. Wenn sodann später die Raupen auf den ausgebildeten Blättern eine ansehnliche Größe erreicht haben, so kann man sie durch Frauen einsammeln lassen, welche die zusammengerollten Blätter abpflücken. Da die Springwurmmaulen aber sehr beweglich sind, so passiert es leicht, daß sie sich zu Boden fallen lassen.

Die Raupen der ersten Generation von *C. ambiguella* und *E. botrana* zerstört man wohl auch bisweilen in den Blüten, indem man sie zerdrückt oder mit einer Nadel durchsticht. Da aber die Raupen von *E. botrana* sehr lebhafte Tiere sind und zu entfliehen suchen, so versieht man sich mit einem mit Petroleum gefüllten, flachen Gefäß, das man unterhält. Bei der zweiten und dritten Generation der Raupen von *C. ambiguella* und *E. botrana* wird hier und da, besonders in der Gironde, das Auslesen (triage des raisins) der noch grünen angestochenen Beeren vorgenommen.

### Referate.

**Maire, R.,** Sur les mitoses hétérotypiques et la signification des protochromosomes chez les Basidiomycètes. (Comptes rendus de la Société de Biologie. 21. April 1905.)

Verf. hat in einer früheren Mitteilung gezeigt, daß die erste Mitose der Mutterzellen bei den Schläuchen der Ascomyceten durch zwei aufeinander folgende Teilungen der Chromosomen charakterisiert ist, und daß sie infolgedessen heterotypisch ist, während die zweite homotypisch und die dritte typisch ist. In der vorliegenden Mitteilung nimmt er die Untersuchungen der Mitosen bei den Basidiomyceten wieder auf, um

30\*

zu sehen, ob dieselben Erscheinungen bei dieser Gruppe auch zu finden sind.

Bei *Mycena galericulata* stellt Verf. bei den Mutterzellen der Basidien Mycele mit chromatischen Netzen fest, die Spuren von Spaltung zeigen, ferner darauffolgende Stadien, in denen die Chromosomen in der Vierzahl vorhanden sind; in der Aequatorialplatte haben sich die vier Chromosomen zu zwei und zwei angeordnet, um zwei Chromosomen zu erzeugen, deren jedes sich in der Metaphase in zwei Tochterchromosomen teilt. Die so entstandenen vier Chromosomen lassen sich sofort in eine zweite Mitose ein, wodurch sich ihre Zahl auf acht erhöht. In der Anaphase findet man vier Chromosomen an jedem der beiden Pole; indessen ist die zweite Teilung der Chromosomen nicht immer vollständig und öfters kann man an den beiden Polen eine verschiedene Anzahl von Chromosomen beobachten.

Bei der zweiten Mitose bilden sich unmittelbar in der Prophase zwei Chromosomen in Gestalt eines V, deren beide Vorkerne sich teilen, um zwei Tochterchromosomen an jedem Pol zu liefern.

Die gleichen Resultate hat Verf. bei einer großen Zahl anderer Arten gewonnen.

Verf. schließt daraus, daß, wie man es bei den geschlechtlichen Mitosen der Phanerogamen feststellen kann, auch die erste Mitose bei den Mutterzellen der Basidien heterotypisch und die zweite homotypisch ist.

In seiner ersten Arbeit über die Basidiomyceten hatte er eine andere Erklärung gegeben: er beobachtete Stadien mit ungefähr acht Chromosomen, die er als ein Stadium der Prophase zu Protochromosomen betrachtete, Stadien mit zwei Chromosomen, die ihm Aequatorialplatten zu sein schienen, und endlich Stadien zu vier Chromosomen, die er zur Metaphase rechnete. Diese Erklärung war ungenau, indem die Stadien mit acht Chromosomen die Stadien der Metaphase darstellen, in der die zweite Teilung der Chromosomen bereits vor sich gegangen ist. Die Zahl der Protochromosomen ist also tatsächlich unveränderlich, und sie gehören teils zum Anfang der Prophase, teils zur Metaphase. Daraus erklärt es sich, daß Blakmann und Harper eine ziemlich große Zahl von Chromosomen in der Anaphase der ersten Mitosen der Mutterzellen bei den Basidien einer gewissen Zahl von Arten haben zählen können.

Guilliermond (Lyon).

**Tscherniajew, E.,** Ueber den Einfluß der Temperatur auf die normale und die intramolekulare Atmung der verletzten Pflanzen. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft. Jahrg. XXIII. Heft 5.)

Zu den Versuchen wurden Zwiebeln von *Allium Cepa* zerschnitten und in zwei Portionen geteilt, jede Portion wog ungefähr 50 g. Die eine wurde bei erhöhter Temperatur gehalten, die andere bei Zimmertemperatur. Die  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung, nach der die Atmungsgröße zu messen war, wurde mit Hilfe der Pettenkofer'schen Röhren bestimmt. Das Ergebnis der Versuche, deren Kurven abgebildet sind, war folgendes:

Bei erhöhter Temperatur wird von den verletzten Pflanzen mehr Kohlensäure gebildet als bei Zimmertemperatur. Das Atmungsmaximum tritt bei erhöhter Temperatur früher auf als bei Zimmertemperatur. Bei Aufenthalt der Zwiebeln im Wasserstoffstrom wird die Energie der

intramolekularen Atmung weder bei gewöhnlicher noch bei erhöhter Temperatur durch die Verletzung vergrößert.

Die Quotienten der ausgeschiedenen Kohlensäuremengen bei gewöhnlicher und bei erhöhter Temperatur steigen täglich bei der normalen Atmung und sinken bei der intramolekularen Atmung.

Seligmann (Berlin).

**Grafe, Wilhelm**, Studien über Atmung und tote Oxydation. (Anzeiger Kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien. Jahrg. XLII. 1905. No. 10. p. 124—125.)

Versuchsobjekt war u. a. Preßhefe, auch in Reinkulturen. Nach progressiver Erhitzung im lufttrockenen Zustande zeigte die Hefe, welche, wie Wiesner schon nachwies, vollständige Wasserentziehung bei gewöhnlicher Temperatur überlebt, eine vorübergehende Erhöhung der normalen Atmungs- und Gärtätigkeit bis  $50^{\circ}$ , worauf mit Steigerung der Temperatur eine allmähliche regelmäßige Intensitätsabnahme beider Prozesse bis  $110^{\circ}$  stattfand. Das prozentuale Verhältnis der in den beiden korrespondierenden Vorgängen ausgeschiedenen  $\text{CO}_2$ -Mengen erhielt sich bis zu diesem Punkte fast konstant. Bei  $110$ — $130^{\circ}$  ist der größte Teil der Zymase in der Hefe unwirksam gemacht und auch das Leben ist erloschen, da keine Zellvermehrung stattfindet. Die Wirksamkeit der Zymase läuft also gleichzeitig mit der Atmungstätigkeit ab. Trotzdem findet noch weiter  $\text{O}_2$ -Aufnahme und  $\text{CO}_2$ -Abgabe statt. Die hier noch stattfindenden Oxydationsvorgänge bezeichnet Wiesner als „tote Oxydation“. Bei  $130^{\circ}$  findet sonderbarerweise eine stärkere  $\text{CO}_2$ -Exhalation und  $\text{O}_2$ -Aufnahme statt, als dies während der mit der Gärung korrespondierenden physiologischen Verbrennung der Fall war. Beide Prozesse sind das Werk von Oxydasen. Bei  $190^{\circ}$  erfährt die tote Oxydation eine rapide Verminderung, ohne jedoch ganz aufzuhören, bei  $200$ — $205^{\circ}$  war sie völlig eingestellt. Doch auch hier findet eine weitere minimale Sauerstoffaufnahme statt. Da liegt eben die Vermutung eines getrennten, wenn auch korrelativen Ablaufes beider Prozesse, etwa durch das Wirken zweier verschiedener entsprechender Enzyme nahe. — Die bei diesen Versuchen abgegebene  $\text{CO}_2$  und der aufgenommene  $\text{O}_2$  wurden gewichtsanalytisch bestimmt.

Matouschek (Reichenberg).

**Effront, L.**, Sur l'autophagie de la levure. (Le Moniteur Quesneville. 1905. No. 763. Juillet).

Bringt man Hefen in destilliertes Wasser von  $30^{\circ}$ , so kann man nach kurzer Zeit eine Gewichtsabnahme der Hefemassen feststellen. Die Gewichtsabnahme beruht auf der Zersetzung hochkomplizierter Zellsubstanzen in lösliche Abbauprodukte; so findet man Leucin, Tyrosin, Sarcin, Xanthin, Histidin, Arginin, Lysin, Essigsäure, Kohlensäure, Alkohol und andere Körper. Die Entstehung dieser Verbindungen beruht auf der Tätigkeit verschiedener Fermente der Hefezelle, die das eigene Körpermateriale angreifen, da sie fremde Nährstoffe nicht finden. Der ganze Vorgang, der als fermentativer Prozeß natürlich von äußeren Einflüssen sehr abhängig ist, wird Autophagie genannt.

Wie weit der Abbau der Körpersubstanzen gehen kann, zeigt die erste Versuchsreihe. Von den ursprünglich angewandten 500 g reiner Preßhefe sind nach 10 Tagen rund 90 Proz. der stickstofffreien und etwa 85 Proz. der stickstoffhaltigen Substanzen verschwunden. Am schnellsten in Tätigkeit tritt das saccharifizierende Ferment, dem die

Oxydasentätigkeit unmittelbar folgt. Amylase, Cytase, Endotryptase setzen auch bald ein. Je weiter die Autophagie, ein Analogon der Autolyse, fortschreitet, um so mehr nimmt auch der wirksame Fermentgehalt der Lösungen ab, bis er nach 10 Tagen nahezu völlig verschwunden ist.

Im Zusammenhang mit den chemischen Veränderungen stehen morphologische. Mikroskopisch zeigt sich ein Heller- und Durchscheinendwerden der Zellen und Verkleinerung der Vakuolen. Die 10 Tage lang in Wasser hungernden Hefen zeigen nur noch die Gestalt kleiner, unregelmäßiger Scheiben, das Resultat einer Kontraktion der völlig leeren Zellhüllen. Ein Kern ist nicht mehr deutlich wahrzunehmen. Die Zellen sind tot.

Bringt man die Hefen statt in Wasser in eine Lösung von folgender Zusammensetzung: Wasser 187, Alkohol (i. 950) 42, Fluorwasserstoffsäure (60-proz.) 1, so wird die Autolyse stark gehemmt; nach 30 Monaten sind von 730 g Gesamtgewicht noch 729,6 g vorhanden. Gasentwicklung ( $\text{CO}_2$ ) findet überhaupt nicht statt, sämtliche Fermente ruhen, mit Ausnahme des tryptischen Ferments. Auf dessen fast ungeschwächter Wirksamkeit beruht das Verschwinden koagulierbarer Substanzen, der reichliche Amingehalt der Flüssigkeiten bei relativer Armut an Albumosen. Die Fermente selbst leiden aber viel weniger als in destilliertem Wasser, so daß selbst nach 30 Monate langem Aufenthalt in der Lösung die Hefen, wenn sie in günstige Nährlösungen gebracht werden, noch fermentieren.

Entsprechend anders verhält sich das mikroskopische Bild. Die Zellen sind nach 10 Tagen völlig intakt, enthalten jedoch 2—3 glänzende, stark lichtbrechende Punkte. Die Zellhülle ist sehr fein, die Form im ganzen ein wenig in die Länge gezogen. Nach 30 Monaten zeigt sich fast das gleiche Bild; nur die Zellmembran ist noch feiner und dünner geworden. Bringt man diese Zellen in frische Nährlösungen, so quellen sie, bilden neue Vakuolen und nehmen an Umfang zu.

Das 3. Kapitel der Arbeit vergleicht die Selbstverdauung der Hefen im wässrigen und im Alkohol-Fluornatriummedium. Am auffälligsten ist der Unterschied im Abbau der Kohlehydrate: während in der wässrigen Aufschwemmung nach 10 Tagen von 100 Teilen Kohlehydrat nur noch 11,2 Teile vorhanden sind, bleibt in der gleichen Zeit im alkoholischen Medium ein Rest von 64,3. Die Unterschiede im Abbau der anderen Bestandteile sind ebenfalls deutlich, ohne jedoch so exzessive Zahlen zu erreichen.

Von 100 Teilen Anfangsgehalt bleiben:	nach 10 Tagen im Wasser	nach 10 Tagen in alkoholischer Lösung	nach 30 Monaten in alkoholischer Lösung
Trockensubstanz	12,8	31,8	29,7
Eiweiß	14,6	10,8	7,59
Kohlehydrat	11,2	64,3	64,4
Asche	6,25	10,0	22,2

Die Selbstverdauung der Hefen im wässrigen Medium geht also hauptsächlich auf Kosten der Kohlehydrate, die Selbstverdauung in al-



koholischer Lösung auf Kosten der Eiweißsubstanzen vor sich. Noch deutlicher wird dies Verhalten in folgender Tabelle:

		Frische Hefe	nach 10 Tagen in Wasser	nach 30 Monaten in alkoholischer Lösung
Eiweiß	in %	56,3	65,40	14,37
Kohlehydrat und Fett	„ „	38,60	33,60	83,60
Asche	„ „	5,11	2,49	2,1

Unter den übrigen Produkten der Hefeselbstverdauung ließen sich geringe Mengen Formaldehyd und Amylalkohol nachweisen.

Seligmann (Berlin).

**Wehmer, C.**, Ueber das Verhalten der Mucor-Arten gegen verdünnten Alkohol. (Berichte d. d. botan. Ges. Jahrg. XXIII. Heft 5.)

Verf. hatte früher die Ansicht vertreten, daß Mucor-Arten, gleichwie manche Aspergillen und Penicillien, den selbstgebildeten oder ihnen von außen dargebotenen Alkohol zersetzen können. Die vorliegenden Versuche, die auch im Centralbl. f. Bakt. II, Abt. 1905. Juniheft ausführlicher beschrieben werden, bringen eine Richtigstellung. Es sind Gärversuche mit Mucor javanicus in Doppelschalen (je 100 ccm Würze). Der Alkoholgehalt vermindert sich in den ersten 24 Tagen um ca. 1 Proz., in den zweiten 24 Tagen um weitere 2 Proz. Kontrollschalen mit je 100 ccm eines verdünnten Alkohols ohne Mucor-Zusatz ergaben, daß der Alkoholgehalt selbst geringprozentiger Lösungen rapide abnimmt, schon nach 3 Wochen ist er auf die Hälfte gesunken, wöchentlich vermindert er sich um rund 1 Proz. Diese Verdunstung genügt also vollkommen zur Erklärung des Alkoholverlustes in den Mucor-Versuchen. Sollte der Pilz trotzdem imstande sein, Alkohol zu zersetzen, so kann diese Fähigkeit nur sehr gering sein.

Seligmann (Berlin).

**Bokorny, Th.**, Ueber das Aufsammlungsvermögen der Hefe für Farbstoffe und gewisse Schwermetallsalze. (Allg. Brauer- u. Hopf.-Ztg. 1905. No. 193. p. 2101.)

Daß Zellen vermöge ihres Inhaltes an Eiweiß und anderen Stoffen ein Aufsammlungsvermögen für Farbstoffe besitzen, ist schon lange bekannt. Auf demselben beruhen ja die verschiedenen Färbemethoden bei Bakterien und anderen Objekten der Pflanzen- und Tierwelt. Nimmt man Hefe und bringt kleine Portionen derselben in ziemlich starke Lösungen von 1) Fuchsin, 2) Methylenblau, 3) Jodviolett, 4) Jodgrün, 5) Fluoresceïn, 6) Lackmus, so bemerkt man bald, daß die Hefe die betreffenden Farbstoffe in sich aufspeichert und dann tiefer gefärbt erscheint als die Farbstofflösung selbst. Nur der Lackmusfarbstoff macht hierin eine Ausnahme; er scheint nicht aufgenommen und gebunden zu werden.

Eine andere Frage ist nun freilich, ob lebende Hefezellen ein Färbungsvermögen besitzen so wie es an den lebenden Wurzeln mancher Wasserpflanzen gefunden wurde. Verf. stellte Versuche mit Hefe in mit

Methylenblau gefärbten Rohrzuckerlösungen an und gelangte zu dem Resultate, daß die lebende Hefenzelle färbbar ist. Er sah dabei in manchen Fällen deutlich, daß das Plasma selbst Farbstoffe aufgenommen hatte, und zwar sowohl an den ganz jungen wie auch an den älteren und an den ausgewachsenen Zellen. Da sogar in den Lösungen 1:1000000 die Hefe eine deutliche Farbe annahm und die Farbe der Hefe bei allen Versuchen eine dunklere war als die der Lösung, so ist klar, daß die Hefenzellen ein beträchtliches Aufsammlungsvermögen für gewisse Farbstoffe besitzen.

Ein ganz ähnliches Speicherungsvermögen besitzt nun die Hefe merkwürdigerweise auch für gewisse Schwermetallsalze, aber nicht für alle. Selbstverständlich stirbt sie dabei ab. Aus einer so enorm verdünnten Lösung wie 1:1000000 von Silbernitrat vermochte die Hefe das Silber aufzusammeln. Ähnliche Resultate erhielt Verf. mit Kupfervitriollösungen.

Klöcker (Kopenhagen).

**Brandauer, M.**, Versuche über das proteolytische Enzym im bayerischen Darrmalze. (Zeitschr. für das gesamte Brauwesen. Jahrg. XXVIII. 1905. No. 28.)

Verf. hat durch eingehende Versuche festgestellt, daß in dem bayerischen Darrmalz ein kräftiges peptatisches Enzym vorhanden ist, das seine größte Wirksamkeit bei etwa 50° C entfaltet, ferner kann eventuell ein die gelösten peptischen Stickstoffsubstanzen weiter spaltendes tryptisches Enzym, welches aber für den Sudprozeß praktisch nicht in Frage kommt, vorhanden sein. Allein das peptatische Enzym kommt beim Maischprozeß unter Verwendung von bayerischem Malz in Wirkung, das heißt es spaltet die unlöslichen Eiweißprodukte.

Kausch (Charlottenburg).

**Kukla, Anton**, Kurze oder lange Tennenführung im Lichte der stickstoffhaltigen Substanzen des Malzes und des Bieres. (Oesterr. Brauer- u. Hopf.-Ztg. 1905. No. 16. p. 193.)

Verf. gelangt u. a. zu dem folgenden Resultate, daß Biere aus kurzen Mälzen sehr zur Sarcina-Infektion und Kleistertrübung neigen, und daß ferner Sarcina in Bier aus kurzen Mälzen vorwiegend nur bei Kleistertrübung auftritt, während bei Glutintrübung in Bier aus gleichen Mälzen in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle Mycoderma zum Vorschein kommt.

Klöcker (Kopenhagen).

**Wichmann, Heinrich**, Japanisches Bier. (Allg. Zeitschr. f. Bierbr. u. Malzfabr. 1905. No. 28. p. 305.)

Zwei Proben japanischer Biere wurden vom Verf. einer chemischen und biologischen Analyse unterzogen. Beide Biere waren pasteurisiert und enthielten keine lebensfähigen Bakterien oder Sproßpilze. Dagegen wurden einzelne Mycelien von Fadenpilzen beobachtet, welche aber nicht mit den gewöhnlichen Schimmelpilzen (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Dematium*), wie sie sonst in Bier nicht selten sind, identisch waren, sondern höheren Pilzen angehörten. Eine Bestimmung der Species dieser Pilze war ausgeschlossen, weil die hierzu notwendigen Fruktifikationsorgane nicht zur Ausbildung gelangten. Eine Bedeutung haben solche höhere Pilze für die Haltbarkeit des Bieres naturgemäß nicht, und die untersuchten japanischen Biere können daher als praktisch keimfrei angesehen werden.

Klöcker (Kopenhagen).

**Ogawa, M.**, Bakteriologische Untersuchung getrübten Bieres. (Eisei Saikingaku Jiho [= Hygien.-bakter. Mitteilung]. Bd. I. 1904. No. 2.) [Japanisch.]

Im Anschluß zu Matzuschitas Beobachtung hatte der Verf. 27 Flaschen Bier von 6 verschiedenen Arten auf das Zustandekommen der Trübung bakteriologisch untersucht. Als Ursache der Trübung des Bieres fand er neben Hefe meist sehr verbreitete Bakterien, wie den Kartoffelbacillus, Heubacillus, braunen Kartoffelbacillus etc., so daß er geneigt ist, anzunehmen, daß solche Parasiten meist durch mangelhafte Reinigung der Flaschen, des Korks, der Hände etc. in das Bier gelangen. Nur in 7,4 Proz. des untersuchten Materials war ein Fadenpilz als Ursache der Trübung anzusehen.

K. Miura (Tokio).

**Beijerinck, M. W.**, Een obligaat anaërobe gistings-sarcine. (Koninklijke academie van wetenschappen te Amsterdam. Wis- en natuurk. afd. 25. Feb. 1905.)

Verf. isoliert aus frischer Gartenerde eine anaërob wachsende großzellige Sarcina-Art. Er nimmt Glukose, Fleischextrakt oder Malzextrakt und säuert mit Phosphorsäure an bis 8 ccm Normalsäure pro 100 ccm Kulturflüssigkeit und kultiviert in geschlossenen Flaschen bei 37 ° C. Schon nach 12 Stunden ist unter Schäumen eine starke Gärung eingetreten, die 24—36 Stunden dauert. Die Flüssigkeit bleibt klar, während sich am Boden ein Schlamm absetzt, der die Sarcina in Reinkultur enthält. Der Schaum besteht aus Schleim, der an der Außenseite der Sarcina-Wand, die aus Zellstoff besteht, gebildet wird.

Es treten oftmals zwei Arten Sarcinen auf, eine kleinzellige bräunliche (2—2,5  $\mu$ ), die viel Aehnlichkeit hat mit der Magensarcina, die 1865 von Suringar entdeckt worden ist. Die großzellige farblose Art hat Aehnlichkeit mit Sarcina maxima von Lindner. Beijerinck ist noch nicht überzeugt, daß beide Formen wirklich zwei verschiedene Arten vorstellen. Das Gas, das gebildet wird, ist eine Mischung von 25 Proz. H und 75 Proz. CO<sub>2</sub>.

Ueber die Art der gebildeten Säure liegen noch keine genaueren Untersuchungen vor; der Geruch, der bei der Gärung auftritt, ist jedoch demjenigen ähnlich, der bei der Milchsäuregärung durch den Lactobacillus auftritt. Der Säuretitre steigt von 8 bis 20 normal pro 100. Wiewohl die Sarcina obligat anaërob ist, ist sie unter aëroben Bedingungen in Kolben zu züchten, wenn nur viel Infektionsmaterial genommen wird. Statt Glukose ist Rohrzucker, statt Phosphorsäure Milchsäure oder Salzsäure zu gebrauchen; Laktose und Mannit können für die Isolierung der Sarcina nicht gebraucht werden. Als Stickstoffquelle kann nur Pepton verwendet werden. Die optimale Temperatur der Gärung liegt zwischen 28 und 41 ° C. Die Fähigkeit, Gas zu bilden, geht schnell verloren. Bei Ueberimpfung ist darauf zu achten, daß die Kulturflüssigkeit vor Impfung durch Kochen luftfrei gemacht wird und daß der Säuretitre 8 bis 10 ist, sonst treten die Milchsäurefermente in den Vordergrund. Die Sarcina ist leicht in Reinkultur zu bringen durch hohe anaërobe Kulturen in Reagenzröhren.

Ist sie einmal in Reinkultur gebracht, dann empfiehlt es sich, für die Weiterzüchtung möglichst wenig Säure zu nehmen.

Goslings (Wageningen).

**Röttgen, Th.**, Von den flüchtigen Säuren im Weine und einer einfachen Methode zur Bestimmung derselben. (Deutsche Weinzeitung. 1905. No. 15.)

Nach einem Hinweis auf die Gefahr des Essigstiches im Weine betont Ref. die Notwendigkeit, für die Praxis sich über den Gehalt der einzelnen Weine an flüchtiger Säure fortdauernd auf dem Laufenden zu erhalten. Als einfachste Methode zur Bestimmung des Gehaltes eines Weines an flüchtiger Säure empfiehlt er eine indirekte Methode, nämlich die Differenz zu berechnen, welche sich ergibt aus dem Gesamtsäuregehalt des Weines und demjenigen der gleichen Menge Wein, nachdem diese dreimal unter jedesmaligem Auffüllen mit Wasser eingedampft wurde.

Schander (Geisenheim).

**Schindler**, Einiges über kranke Jungweine und deren Behandlung. (Weinlaube. 1905. p. 93.)

Verf. berichtet, daß in diesem Jahre der Versuchsstation San Michele besonders häufig krankhaft getrübt sogenannte umgeschlagene Weine zur Beurteilung eingesandt wurden. In vielen Fällen waren die Weine rahn, in anderen wurde das Trübwerden durch „Trübungsbakterien“ verursacht. Nach ihm sind diese Bakterien sehr luftbedürftig und vermehren sich in einem der Luft ausgesetzten Weine sehr schnell. Deshalb treten die Trübungen bei jeder Berührung des Weines mit Luft, Abstich etc. von neuem in Erscheinung. Zur Bekämpfung der Krankheit empfiehlt Verf., den Wein zu pasteurisieren oder aber, wo das nicht angängig ist, zu schwefeln. Und zwar zieht er die Zugabe von Natriumbisulfit zum Wein dem gewöhnlichen Schwefeln (Abbrennen von Schwefel) vor. Der geschwefelte Wein wird nach 8–10 Tagen geschönt oder filtriert und sollen auf diese Weise die Bakterien vollkommen aus dem Weine entfernt werden. — Nach den von anderer Seite gemachten Erfahrungen erscheint es dem Ref. zweifelhaft, ob durch das beschriebene Verfahren die Bakterien vollkommen aus dem Weine entfernt werden können. Einmal werden bei dem üblichen Schwefeln der Weine keineswegs sämtliche Organismen abgetötet und dann gehen die Bakterien zum Teil auch durch das beste Filter hindurch. Vielmehr wird es notwendig sein, dem Weine, nachdem durch Schwefelung und Filtration der größere Teil der Bakterien entfernt ist, durch Erhöhung des Gehaltes an Alkohol und Säure (Verschnitt, Umgären) eine solche chemische Zusammensetzung zu geben, daß es den Bakterien nunmehr unmöglich wird, sich zu entwickeln.

Schander (Geisenheim).

**Schander, R.**, Ueber fehlerhafte Gärung bei Beerenweinen. (Geisenheimer Mitteilungen über Obst- und Gartenbau. 1905.)

Bei der Vergärung von Beerenweinen wird nicht selten die Gärkraft der Hefe überschätzt, indem die Moste zu stark gezuckert werden und die Nachgärung bei zu niederen Temperaturen durchgeführt wird. Ebenso bewirken stärkeres Auftreten anderer Wein Organismen: *Apiculatus*-Hefe, Essigbakterien etc., ebenso Schwefeln vor Beginn oder vor Beendigung des Gärungsprozesses nicht selten Gärungsstockungen. Dieselben können vermieden bzw. beseitigt werden durch richtige chemische Zusammensetzung des Mostes, Verwendung geeigneter Gärtemperaturen, Vermeidung unzeitigen Schwefelns, Aufrühren und Lüften der Hefe und nachträglichen Zusatz von Reinhefe, überhaupt durch fachgemäße Keller-

behandlung und sinngemäße Beachtung der wichtigsten gärungsphysiologischen Grundsätze. Schander (Geisenheim).

**Rothenbach, F. und Eberlein, L.,** Zu der Enzymgärung der Essigpilze. (Die deutsche Essigindustrie. Bd. IX, No. 29. p. 233—234.)

Die Verff. haben die Buchnerschen Versuche über zellenfreie Essigbildung (Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXVI, p. 637) wiederholt und erweitert. Als Essigorganismen züchteten sie *Bacterium pasteurianum* auf entkohlensäuertem und pasteurisiertem Bier. Die entstehenden Pilzhäute wurden durch Dekantieren, Filtrieren durch feine Gaze und Abpressen möglichst von Essig befreit, in Aceton eingetragen und dann mit Hilfe eines feinmaschigen Drahtsiebes und einer scharfen Bürste die Zellverbände voneinander getrennt. Dann wurde abgesaugt und der Filtrerrückstand mit Aceton, darauf mit Aether ausgewaschen. Durch Trocknen im Vakuum bei gewöhnlicher Temperatur wurden so 20 g Trockenbakterien erhalten. Mit Jodlösung gaben diese die für *B. pasteurianum* charakteristische Grünblaufärbung, Methylenblau färbte den Zellinhalt, die Zellen waren also tot. Die Abwesenheit lebender Zellen wurde auch noch weiter durch Kulturversuche nachgewiesen. 10 g der Trockenbakterien wurden mit 5 g Seesand und 5 g Kieselgur im sterilen Mörser unter Zusatz von sterilem Wasser zerrieben und in einem sterilen Kolben mit 1 g kohlensaurem Kalk, 140 ccm 4-proz. wässerigem Alkohol und 6 ccm Toluol zusammengebracht. Der Kolben wurde mit sterilem Luftfilter verschlossen und sodann Luft durchgesaugt. Als Parallelversuch wurden 9,7 g Trockenbakterien ganz wie beim Hauptversuch behandelt, nur war an Stelle des Alkohols reines Wasser verwendet worden und die Lüftung unterblieb. Der erste Versuch wurde nach 3tägiger Lüftung unterbrochen, der Kolbeninhalt filtriert, der Filtrerrückstand durch Auswaschen und mehrfaches Auskochen möglichst extrahiert, die Filtrate unter Alkalizusatz konzentriert und schließlich nach Zusatz von Schwefelsäure mit Wasserdampf sorgfältig destilliert. In dem Destillat wurde die Säure durch Titration mit Kalilauge bestimmt, es wurden, auf Essigsäure berechnet, im ganzen 0,3174 g Säure erhalten. Die mit reinem Wasser angesetzten Bakterien wurden geradeso behandelt, hierbei wurden durch Destillation 0,24017 g Säure erhalten. Daraus berechnet sich, daß 100 g Trockenbakterien in Alkohol 3,17 g, in Wasser 2,48 g Essigsäure geliefert hätten, das Plus von 0,69 g im ersteren Fall ist auf Enzymtätigkeit zu setzen.

Zu der Beobachtung, daß auch in reinem Wasser Essigsäure zu finden war, bemerken die Verff., daß Rothenbach schon früher beobachtet hat, daß Daueressigbakterien, die im unverletzten Zustand völlig neutral reagierten, beim Zerreiben sauer reagieren. Die Beobachtungen wurden an *Bacterium acetigenum* und *Bacterium ascendens* gemacht. Durch einen weiteren Versuch — direkte Titration der zerriebenen Bakterien — stellten Verff. fest, daß in 3 g Trockenbakterienmasse von *B. pasteurianum* 0,4 g Säure, auf Essigsäure berechnet, enthalten war. Weitere Versuche müssen noch feststellen, ob diese Säure von den Bakterien in den Zellen zurückgehalten wird, oder erst beim Zerreiben derselben mit Wasser gebildet wird. Mohr (Berlin).

**König,** Biologische und biochemische Studien über Milch. Dritter Teil: Der Säuregrad der Milch. Uebersetzt von

**Johs. Kaufmann.** (Milchwirtschaftl. Centralbl. 1905. Heft 7 u. 8.)  
(Vergl. die früheren Referate. Teil II. Bd. XIV. p. 426; Bd. XV. p. 68.)

Verf. hebt zunächst hervor, daß die Bestimmung des Alters der Milch nur möglich ist, wenn die Umstände, unter denen das Melken geschieht, überall dieselben sind, was bekanntermaßen keineswegs der Fall ist. Die Veränderlichkeit des Säuregrades der Milch hängt von der größeren oder geringeren Reinlichkeit, unter deren Beachtung die Milch gewonnen wird, ab. Gleichwohl besteht aber auch die Möglichkeit, daß bei einer mit großer Sorgfalt entnommenen Milch Infektion durch eine allgemein verbreitete Säurebakterie Anlaß zu einer schnellen Zersetzung gibt. Nach Ansicht des Verf. hat demnach die Bestimmung des Säuregrades zum Zweck der Beurteilung des Alters der Handelsmilch noch wenig Wert, zumal in der kälteren Jahreszeit.

Verf. geht dann auf die Methoden zur Bestimmung des Säuregrades der Milch ein, von denen er eine solche mit  $\frac{1}{10}$  Normalnatronlauge benutzt, und als Indikator 2 Proz. alkoholische Phenolphthaleinlösung verwendet.

Weiter wird die Frage besprochen, daß in dem sogenannten „Inkubationsstadium“ trotz der Vermehrung der Säurebakterien die Milch ihren Säuregrad nicht ändern soll, und den hierfür nach Ansicht früherer Forscher maßgebenden Umständen Beachtung geschenkt. Verf. teilt dazu mit, daß nach seinen Untersuchungen die Erklärung des Inkubationsstadiums etwas abzuändern ist. Sowohl die Erlahmung, welche die Bakterien durch Uebertragung aus einem Medium in das andere erfahren, als auch die bakteriziden Eigenschaften der frischen Milch, die einen Stillstand des Mikrobenstoffwechsels hervorrufen, sind Ursache, daß die Reaktion der Milch sich in diesem Stadium so gut wie gar nicht ändert. Der Verlust an Kohlensäure wird bei der frischen Milch nicht durch eine Produktion von organischen Säuren durch Bakterien ausgeglichen, der Säuregehalt derselben bleibt infolgedessen nicht konstant, sondern nimmt ab.

Verf. bringt dann zahlenmäßige Angaben über den Säuregrad von Milch, welche sich in der bakteriziden Phase befindet, und über den Einfluß der Temperatur auf die Säuerung. Die vom Verf. früher gekennzeichneten Phasen werden bei höherer Temperatur verkürzt; schleuniges Abkühlen der Milch nach dem Melken, wie kühle Aufbewahrung sind von großer Bedeutung für die Schnelligkeit, mit der ein Sauerwerden eintritt. Denn einerseits wird dadurch die bakterizide Phase verlängert, und zweitens die Milchbakterien so wenig wie möglich ihrem Temperaturoptimum ausgesetzt.

Es folgen Angaben über die Bedeutung der Stalluftinfektion, des Zeitpunkts der Entnahme der Probe während des Melkens, sowie über die Beziehungen der Form des Behälters der Milch zum Sauerwerden, welche letztere nach Verf. von Bedeutung ist. Auf den sehr hohen Säuregehalt der Biestmilch (Colostrum) wird hingewiesen.

Verf. stellt weiter den Satz auf, daß im allgemeinen kein Zusammenhang zwischen Anzahl der Bakterien und Säuregrad besteht. Erst wenn der Säuregrad eine gewisse Grenze überschritten hat, besteht in einer bestimmten Phase ein Zusammenhang zwischen dem Steigen des Säuregrades und der Anzahl der Milchsäurebakterien, die in einer Phase leben. Wenn sterilisierte Milch mit einer Milchsäurebakterie geimpft wird, geht dagegen Säuregrad und Anzahl der Bakterien zusammen.

Morgenmilch enthält nach einigen Untersuchungen mehr Bakterien

als Abendmilch. Ob dies an der am Morgen größeren Füllung des Euters, und dem dadurch weniger festen Verschuß des Strichkanals liegt, ist dem Verf. zweifelhaft. (Meines Erachtens ist eine einfache Erklärung vielleicht darin zu suchen, daß am Morgen die Melker leicht bei ihrer Arbeit einschlafen und daher das ganze Geschäft nachlässiger, und so unsauberer vor sich geht, als am Abend.)

Bei Behandlung der Fragen, die bezüglich der Verwendung von Reinkulturen zur Infektion pasteurisierten Rahmes sich ergeben, weist Verf. darauf hin, wie wichtig gerade hier ungewollte spontane Infektionen sein können. Nach eingehenden Angaben über Untersuchungsergebnisse von einigen, im Handel erhältlichen und zur Rahmansäuerung verwendeten Reinkulturen, und die in solchen Kulturen festgestellten Bakterien, sieht sich Verf. nicht in der Lage, ein gleich scharfes Urteil über diese zu fällen, wie dies von anderer Seite (diese Zeitschr. Bd. VII. p. 153) geschah.

Verf. schließt damit, daß es nach seinen Untersuchungen sehr wohl möglich ist, eine Reinkultur zu untersuchen, zu kontrollieren und nachzuahmen. Gleichfalls, daß die bakteriologische Untersuchung eines Molkereiproduktes, welches zufällig eine sehr erwünschte Eigenschaft besitzt, und infolgedessen auch einen größeren Handelswert erlangt, sehr wichtig ist, wie sie u. a. auch angeben kann, nach welchem Verfahren eine Molkerei ein bestimmtes Produkt darstellt.

(Als bedauerlich ist zu bezeichnen, daß Verf. von der Benutzung von Paralleluntersuchungen völlig abgesehen hat.)

Paul Ehrenberg (Breslau).

**Majunke**, Ueber die Verarbeitung von Obst auf Branntwein. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XXXVIII. No. 28.)

Der große Obstüberschuß des Jahres 1900 in der Schweiz gab Anlaß zur Verarbeitung großer Mengen Äpfel und Birnen auf Branntwein bzw. Spiritus. Ein Schnellverfahren, das die 2—3 Wochen dauernde Gärung ersetzt, war nötig, schon aus Raummangel. Das Obst wurde einfach in den Henze geworfen, dieser, nachdem er gefüllt war, geschlossen und nun von unten unter voller Oeffnung des zölligen Ventils Dampf gegeben. Bei Druck von 3 Atmosphären wurde die Obstmasse innerhalb 25 Minuten ausgeblasen. Die Maische sah rötlich aus, war ziemlich flüssig und von Kerngehäusen durchsetzt; durch eine Zentrifugalpumpe wurde sie in die Gärbottiche gepumpt und von dort im kontinuierlichen Apparat destilliert. Irgend welche Verstopfungen durch Kerngehäuse etc. kamen nicht vor.

Zum Anstellen der Obstmaischen erwies sich eine Grünmalzhefe sehr brauchbar, um so mehr, als sich in vergärbaren Zucker überzuführende Extraktstoffe kaum vorfinden. Es ist fast ausschließlich direkt vergärbarer Traubenzucker vorhanden. Die erzielte Vergärung stellte sich auf 1,4—1,6° Bllg. Der Alkoholertrag betrug pro 100 kg 6,2 l.

Seligmann (Berlin).

**Lutz, L.**, Les microorganismes fixateurs d'azote. [Morphologie et biologie.] 187 pp. 19 fig. Paris 1904.

Die Bindung von atmosphärischem Stickstoff im bebauten und unbebauten Boden ist eine Erscheinung, die die Physiologen aufs lebhafteste interessiert hat und seit 25 Jahren der Gegenstand einer beträchtlichen Anzahl von Veröffentlichungen gewesen ist. Der Verf. hat geglaubt,

einem Bedürfnis abzuhelpen, wenn er in gewissem Grade die gewonnenen Resultate zusammenstellte, und sich auf die Untersuchungen über die Bindung des Stickstoffs selbst beschränkt, ohne sich weiter um die ferneren Veränderungen zu kümmern, die dieses Element durchmacht: Nitrifikation, ammoniakalische Gärung, Denitrifikation u. s. w.

Die Arbeit von M. Lutz umfaßt neun Kapitel. Nach der Geschichte von der Bindung des atmosphärischen Stickstoffgases durch den Boden und die Pflanzen (Kapitel I) führt der Verf. die Untersuchungen Winogradskys über das *Clostridium Pasteurianum* und die Beijerincks über die verschiedenen Stickstoffbakterien auf, d. h. die Kulturversuche mit stickstoffbindenden Mikroorganismen (Kapitel II). Die interessante Rolle des Alinits wird weiterhin mit Einzelheiten geprüft (Kapitel III).

Nach einer interessanten Darlegung der allgemeinen Bedingungen für die unmittelbare Stickstoffbindung des Bodens und des Einflusses verschiedener mineralischer Substanzen auf diese Erscheinung (Kapitel IV) untersucht der Verf. im einzelnen die Morphologie und Physiologie der Wurzelknöllchen bei den Leguminosen und der Organismen, die sie enthalten (Kapitel V). Dieses Kapitel, wegen seiner praktischen Bedeutung nämlich das wichtigste von allen, ist zuerst den äußeren Merkmalen gewidmet, der Farbe, der Verteilung, dem Sitz, der Natur und der Entwicklung der Wurzelknöllchen; die Struktur wird nach der sorgfältigen Arbeit von Vuillemin kurz geschildert. Die Bakteroiden selbst werden beschrieben nach den Untersuchungen von Laurent und Mazé, ebenso wie die künstlichen Kulturen der Mikroorganismen, die Experimentaluntersuchungen durch Impfung u. s. w.

Indem er dann zu den Nutzenwendungen übergeht, faßt der Verf. (Kapitel VI) die Versuche zusammen, die sich auf die Kultur im Großen beziehen, die Impfungen im Boden, den Einfluß derselben, die Wirkung von Düngemitteln und endlich Versuche von Bodenimpfungen, die man mit Reinkulturen des Mikroben der Leguminosen angestellt hat, mit einem Wort, die Geschichte des Nitragin (Kapitel VII).

Die Bakterienknötchen, die sich auf den Wurzeln anderer Pflanzen, als der Leguminosen finden (*Alnus*, *Elaeagnus*, *Hippophae*, *Myrica*, *Podocarpus* und *Datisca*), bilden den Gegenstand eines besonderen Kapitels (VIII).

Endlich wird das Phänomen der Bindung freien Stickstoffs durch Algen, die mit Bakterien in Symbiose leben, durch Moose und durch gewisse Schimmelpilze (Kapitel IX) berücksichtigt.

Ein umfangreicher bibliographischer Anhang beschließt diese gewissenhafte Arbeit. Houard (Paris).

**Vibrans**, Nutzbarmachung des Luftstickstoffs. (Deutsche landw. Presse. 1905. No. 11.)

Verf. ergänzt in dieser Abhandlung seine schon früher<sup>1)</sup> vom Standpunkt des praktischen Landwirts aus gemachten Beobachtungen über die Nutzbarmachung des Luftstickstoffs durch Maßnahmen der Bodenkultur. Nach seinen Erfahrungen ist es zur Erzielung einer guten Bodengare und zur Anregung einer kräftigen Stickstoffsammlung im Boden notwendig, die Kulturböden nicht tief, sondern nur flach zu pflügen, und, wenn nötig (für tiefwurzelnde Pflanzen), den Untergrund

1) Siehe diese Zeitschr. Bd. XIII. p. 362.



mit einem geeigneten Untergrundpflug zu lockern. Dadurch wird erreicht, daß das Bakterienleben in den oberen Bodenschichten ungestört seinen Fortgang nimmt, und daß kein „toter“ Untergrundboden auf die Kulturschicht gelangt.

Auch das tiefe Unterpflügen von Stall- und Gründünger hält Verf. aus ähnlichen Gründen für unzweckmäßig. Er schließt aus seinen Betriebsergebnissen: „Daß die günstigsten Bedingungen für die Vermehrung von stickstoffsammelnden Bakterien in der Ackererde geschaffen werden, wenn man den animalischen Dünger mit der Ackererde der Stoppelschicht, in welcher bereits eine starke Vermehrung der Bakterien stattgefunden, durch Unterpflügen des animalischen Düngers 12—15 cm tief mischt.“ Tief untergepflügter Stalldünger zersetzt sich nicht in der gewünschten Weise, sondern er wird später häufig in verrottem oder verschimmeltem Zustande wieder vorgefunden. Vibrans ist der Ansicht, daß eine kräftige Vermehrung der stickstoffbindenden Bakterien vornehmlich in den für Luft, Licht, Wärme und Feuchtigkeit leicht zugänglichen oberen 12—15 cm der Bodenschicht erfolgt, während in größerer Tiefe die Bedingungen für die Tätigkeit der denitrifizierenden Bakterien günstigere werden. Verf. gibt der Hoffnung Ausdruck, daß sich die richtig behandelte Ackererde derartig mit Stickstoff aus der Luft anreichert, „daß in absehbarer Zeit außer dem im angewendeten animalischen Dünger enthaltenen Stickstoff eine Zuführung von künstlichem Stickstoff überflüssig werden dürfte“. Das wäre allerdings ein Ziel, „des Schweißes der Edlen wert“. Vogel (Bromberg).

**Rippert**, Neuere über Pflanzenkrankheiten. I. (Fühlings landwirtschaftliche Zeitung. 1905. Heft 14.)

Verf. gibt eine Zusammenstellung neuerer Forschungsergebnisse auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten.

Zunächst wird bezüglich der sogenannten Schwarzbeinigkeit der Kartoffeln erwähnt, daß der eigentliche Erreger, *Bac. phytophthorus*, durch Auflösung der Interzellularsubstanz wirkend, besonders durch feuchtes, warmes Wetter begünstigt wird. Am wenigsten empfindlich sind die stärkereichen, späten Kartoffelsorten, besonders die Dabersche Kartoffel. *Bac. phytophthorus* befällt übrigens auch Gurken und Saubohnen, und findet sich auch in der Ackererde frei lebend als Fäulnisbakterium.

Weitere Stengelerkrankungen der Kartoffel werden von *Bacillus solanicola* (von Delacroix festgestellt) veranlaßt, den häufig eine Ausscheidung gummiartiger Stoffe begleitet, ferner durch *Bacillus solanacearum*, *caulivorus* und *omnivorus*. Alle diese Krankheitserreger sollen gewöhnlich saprophyt sein, und erst bei für sie günstigen Witterungsverhältnissen, in Verwundungen der Pflanzen eindringend, eine parasitäre Lebensweise beginnen, wobei ein durch starke Stickstoffernährung und Kalkgaben verminderter Gerbstoffgehalt der Pflanzen ihr Umsichgreifen angeblich begünstigen soll. Ein Schutz der Pflanzen soll durch Abwelken der Knollen vor dem Auslegen gegeben sein. Einbeizen derselben mit Bordelaiser Brühe hat sich nicht bewährt. Bezüglich der Rostkrankheiten des Getreides stellt Verf. im Anschluß an Eriksson und Klebahn 6 Formen auf:

1) Schwarzrost, *Puccinia graminis* Pers., auf oberirdischen Teilen, doch auch im Innern der Körner von *Secale cereale*, *Triticum vulgare* und *repens*, *Elymus arenarius*, *Bromus mollis*,

*Avena*- und *Hordeum*-Arten und anderen Gräsern. Eine besondere Abart kommt auf *Phleum*- und *Festuca*-Arten vor.

2) Gelbrost, *Puccinia glumarum* Eriks. und Henn., auf Weizen, Roggen, Gerste, *Elymus* und Quecke.

3) Braunrost des Roggens, *Puccinia dispersa* Eriks., nur auf Roggen.

4) Braunrost des Weizens, *Puccinia triticina* Eriks., nur auf Weizen.

5) Zwergrost, *Puccinia simplex* Eriks. und Henn., nur auf Gerste, besonders in Nord- und Mitteldeutschland.

6) Kronenrost des Hafers, *Puccinia coronifera avenae* Eriks., nur auf Hafer. Aehnliche Formen auf *Lolium*, *Alopecurus*, *Festuca* und *Holcus*-Arten, weiter auf *Calamagrostis*, *Phalaris* und *Agrostis*.

Die Anschauungen von Eriksson über das Vorhandensein des Rostkeimes in den Getreidesamen in Form von Mykoplasma, auf die Verf. eingeht, sind von Klebahn und anderen nicht bestätigt worden, und sollen nach letztgenanntem Forscher nur auf unrichtige Diagnostizierung von Haustorien schmarotzender Rostpilze sich gründen.

Bezüglich des Brandes der Getreidepflanzen schließt sich Verf. an Brefelds Mitteilungen an und hebt besonders die saprophytische Lebensweise der Pilze in humusreichen Böden hervor, wodurch sich wieder die Infektion auch gebeizten Saatgutes erklärt. Es wird zuletzt die Formalinbeize (250 g 40 Proz. Formalin auf 100 l Wasser) gegen Brand empfohlen.

Paul Ehrenberg (Breslau).

#### **Blippert, Neuere über Pflanzenkrankheiten. II. (Fühlings landwirtschaftliche Zeitung. 1905. No. 15.)**

Verf. bespricht die durch sogenannte Schwärzepilze hervorgerufenen Getreidekrankheiten:

1) Die Streifenkrankheit der Gerste, bei der im Vorjahre auf den Blättern entwickelte Konidien in der Erde keimen und die Keimpflanzen dort infizieren, durch *Helminthosporium gramineum* Rabh. hervorgerufen.

2) Die *Helminthosporiosis*, an Hafer durch *H. avenae* Briosi et Cav., an Gerste durch *H. teres* verursacht.

Unterscheidende Merkmale der *Helminthosporium*-Arten treten auf künstlichen Nährböden deutlich hervor.

Weiter werden von Obstbaumkrankheiten Gummifluß und Krebs behandelt. Bezüglich des ersteren erwähnt Verf. Aderholds Beobachtungen, und hebt hervor, daß vielerlei Ursachen die Erkrankung veranlassen können; wie auch das beste Heilverfahren eine Regulierung der Ernährungsverhältnisse des erkrankten Baumes ist. Was den Krebs in seinen zwei Erscheinungsformen, der offenen und der geschlossenen, anbelangt, so vertritt Verf. die Anschauung, daß hier wie bei vielen anderen Pflanzenkrankheiten die Infektion, um zu gelingen, eine durch Wundreiben, Frost, Hagel u. s. w. entstandene Wunde vorfinden muß.

Paul Ehrenberg (Breslau).

**Beauverle, J., Le bois.** (Encyclopédie industrielle de M. C. Lechalas). Préface de M. Daubrée). Paris (Gauthier-Villars) 1905.

Dieses wichtige Werk umfaßt nicht weniger als 1400 Seiten und 485 Abbildungen. Der Verf. erörtert darin eingehend alle das Holz betreffenden Fragen, soweit sie vor der Bearbeitung in Betracht kommen. Es soll der Inhalt mit besonderer Berücksichtigung der die Veränderungen des Holzes und seine Erhaltung betreffenden Kapitel angegeben werden, die mit ganz besonderer Sorgfalt behandelt werden und die hier hauptsächlich in Betracht kommen.

Verf. beschreibt zuerst die Struktur des Holzes, seine chemische Zusammensetzung und seine physikalischen und chemischen Eigenschaften. Nachdem man das Holz kennt, muß man auch wissen, wie man es bearbeiten kann, und so gibt denn der Verf. auch einige Notizen über die Holzbearbeitung. Einmal erzeugt, wandert das Holz von der Produktionsstätte zum Ort des Verbrauches, und deshalb geht der Verf. zur Beschreibung des Transportes, des Verkaufs und des Holzhandels über.

Bis jetzt ist das Holz nur in gesundem und normalem Zustande betrachtet worden; aber es ist häufig verschiedenen Veränderungen unterworfen durch Pilze, Insekten u. s. w.; es mußte also, wie der Verf. auch getan hat, ein wichtiges Kapitel den Veränderungen und Fehlern des Holzes gewidmet werden: Fehlern, die durch das Wachstum, Veränderungen und Fehlern, die durch Pflanzen, Tiere und physische Einflüsse bedingt sind. Am häufigsten sind die Veränderungen durch Pflanzen und Tiere. Unter den Pflanzen seien erwähnt zahlreiche Polyporen, Hydnen u. s. w. Der Verf. macht sodann die schönen Arbeiten von R. Hartig und von Tubeuf u. s. w. über die dem Holze schädlichen Pilze in Frankreich bekannt. Man findet in diesem Werke eine sehr eingehende Arbeit über den gefährlichen *Merulius lacrymans*. Der Verf., der häufig in Frankreich die Verwüstungen dieses Bauholzzerstörers beobachtet hat, erschöpft diese Frage, indem er diese deutschen Arbeiten fleißig benutzt.

Eingehend werden weiterhin die zahlreichen Insekten behandelt, die das stehende Holz angreifen und nur zu oft auch in die Gebäude gelangen, wo sie das Holzwerk und die Fußböden zerstören und die Festigkeit der Bauwerke bedrohen, indem sie ihre Gänge in das Zimmerholz hineinbohren.

Man kann die Ursachen der Veränderungen bekämpfen und ihren Folgen vorbeugen. Von diesem Gesichtspunkte aus verfolgt der Verf. folgende Fragen: Trocknung des Holzes, Aufbewahrung unter Wasser, oberflächliche oder tiefgehende Durchtränkung mit einem antiseptischen Mittel, Injektion, Untersuchung der hauptsächlich gebräuchlichen Antiseptica, und der üblichsten Methoden, um sie ins Innere des Holzes eindringen zu lassen, Feuerfestigkeit und Metallimprägnierung des Holzes.

Nach besonders eingehender Untersuchung dieser beiden Fragen der Veränderungen und der Erhaltung des Holzes vervollständigt Beauverie seine Arbeit durch die folgenden, ebenso ausgedehnten Kapitel, von denen hier jedoch nur die Ueberschriften erwähnt werden können: Spezielle Untersuchung der Nutzhölzer und der Arten, die sie hervorbringen: inländische und ausländische Hölzer (für Tischlerei, Zimmerei und Färbung); Kork; die Holzproduktion der Erde, mit interessanten Betrachtungen über die ungenügende Nutzholzproduktion auf der Welt; die Hölzer der französischen Kolonien. In einem letzten Kapitel, das von der Verwertung der Hölzer handelt, ist die verschiedenartige Verwendung dieser kostbaren Substanz aufgeführt.

Es wurde für notwendig gehalten, auf dieses Werk hinzuweisen, wegen des wichtigen Einflusses, den der Verf. (im Gegensatz zu anderen französischen Büchern) den Mikroorganismen und den anderen Lebewesen im allgemeinen auf die Veränderungsvorgänge im Holze zuschreibt.

Guilliermond (Lyon).

**Tuzson, J.**, Anatomische und mykologische Untersuchungen über die Zersetzung und Konservierung des Rotbuchenholzes. Mit 17 Textfiguren und 3 farbigen Tafeln. Berlin 1905.

Der falsche Kern des Rotbuchenholzes wird vom Verf. als Folge von Pilzwirkung, welche von Faulästen ausgeht, aufgefaßt und ist bis zu einem gewissen Grade mit dem Schutzholz von Wundstellen vergleichbar. Eigentümlich erscheint nur, daß er ein stets mit der organischen Mitte des Stammes in Beziehung stehendes Gebilde ist. Insofern hat er Ähnlichkeit mit dem normalen Kern anderer Bäume. Nach Ansicht des Verf. besteht zwischen normalem und falschem Kern folgender Unterschied: Während die normale Verkernung ein von sich selbst verlaufender Prozeß ist, also ein präventives Schutzmittel gegen das Vordringen der Pilze, entsteht der sich unregelmäßiger entwickelnde und unvollkommene abnorme Kern der Rotbuche nur dann, wenn die durch die Fauläste eindringenden Pilze das Innere des Stammes bereits angegriffen haben. Die falsche Kernbildung der Rotbuche besteht in einem Verschuß der Gefäße durch Thyllen und der Einlagerung von braunen gummösen Massen, was eine nicht unbeträchtliche Zunahme des spezifischen Gewichts zur Folge hat. Was nun die Natur der die Verkernung veranlassenden Pilze anlangt, so fand Verf., das hauptsächlich folgende Arten in Betracht kommen: *Tremella faginea*, *Stereum purpureum*, *Hypoxylon coccineum*, *Bispora monilioides*, *Schizophyllum commune*, vielleicht auch *Stereum hirsutum* und einige andere, nicht näher bestimmbare.

Am reichlichsten wird der falsche Kern beobachtet in den Urwäldern Ungarns (infolge der durch rücksichtsloses Pläntern entstandenen zahlreichen Fauläste), wenig dagegen in regelrecht bewirtschafteten Buchenwäldungen mit 80—120-jährigem Umtrieb.

Ein weiteres Kapitel der Arbeit beschäftigt sich mit der Zersetzung des gefällten Holzes. Verf. unterscheidet hier zwei Fälle: 1) Zersetzung des frisch gefällten, noch lebenden Holzes — das Ersticken — und die Zersetzung des ausgetrockneten, abgestorbenen Holzes.

Das Ersticken besteht in einer raschen Braunfärbung (verursacht durch Ausscheidung von Holzgummi) und mehr oder weniger reicher Thyllenbildung, und wird vom Verf. auf die Tätigkeit von Pilzen zurückgeführt. Infektionsversuche an sterilen Holzstücken bestätigten seine Vermutung.

Das Ersticken des Buchenholzes wird verursacht durch folgende Pilze: *Stereum purpureum*, *Hypoxylon coccineum*, *Bispora monilioides*, *Tremella faginea*, *Schizophyllum commune*, also die gleichen Organismen, welche im stehenden Stamme die falsche Kernbildung veranlassen.

Die auf das Ersticken folgende weitere Zersetzung besteht in einer Weißfäule, bei welcher andere Pilze, z. B. *Polyporus hirsutus*, *P. versicolor*, *Stereum hirsutum* und Bakterien eine Rolle spielen. Als eine vom Standpunkt des Praktikers schädliche Erscheinung ist das Ersticken insofern anzusehen, als ersticktes Holz (infolge der Ver-

stopfung der Gefäße durch Thyllen und des andauernd feuchten Zustandes) sich schlecht imprägnieren läßt.

Das Ersticken kann aber verhindert werden durch Anstreichen der Holzstücke mit einem antiseptischen Mittel, z. B. Kupfervitriol. Außerdem muß — da Risse, welche im Holz entstehen, den Anstrich wirkungslos machen — dafür gesorgt werden, das Holz möglichst gegen Feuchtigkeit geschützt aufzubewahren.

Auch die Zersetzung des abgestorbenen ausgetrockneten Holzes wurde vom Verf. studiert. Dasselbe widersteht den Pilzen in viel höherem Maße als das frische Holz; wenn die Zersetzung dennoch erfolgt, greift sie viel langsamer um sich.

Die sogenannte Rotfäule des Buchenholzes wird häufig durch *Trametes Stereoides* (= *Daedalea mollis*) verursacht, sowie auch durch *Poria vaporaria*.

Das letzte Kapitel behandelt die Konservierung des Buchenholzes (durch Imbibition, Ascension, Filtration und Injektion); die letztgenannte Methode — durch Injektion — ist zwar die vollkommenste, eignet sich indessen nicht zur Imprägnierung des frischgefällten, noch nassen Holzes.

An der Luft gut ausgetrocknetes, gesundes Holz nimmt bei Injektion eine Flüssigkeitsmenge auf, welche 61 Proz. des Rauminhaltes des trockenen Holzes beträgt. Was die Imprägnation des erstickten Holzes anlangt, so gelingt dieselbe ziemlich gut mit im entrindeten Zustande erstickten Holze, nicht aber mit solchem, welches in der Rinde erstickt ist.

Das Dämpfen des Holzes vor dem Imprägnieren ist entbehrlich, ja sogar eher schädlich, da das beim Dämpfen im Innern des Holzes niedergeschlagene Wasser das Imprägnieren hindert.

Als Imprägnationsflüssigkeiten eignen sich: Kupfervitriol (besonders bei Ascension und Filtration), Zinkchlorid und Steinkohlenteeröl (bei Injektion). Das letztgenannte Mittel gibt weitaus die besten Resultate, kommt aber doppelt bis viermal so teuer zu stehen, als die Imprägnation mittels Zinkchlorid.

Neger (Tharandt).

**Kgl. Agrikulturbotanische Anstalt in München, Ueber die Getreideroste, unter besonderer Berücksichtigung ihres Auftretens im Jahre 1904. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jahrg. III. 1905. Heft 5/7.)**

Es werden im Zusammenhange die Fragen der Erforschung unserer Getreiderostarten und deren Bekämpfung besprochen. Das Jahr 1904 wird in hohem Grade als Getreiderostjahr bezeichnet. Namentlich der Weizen und in geringerem Maße der Roggen erwiesen sich in den meisten Gebieten Deutschlands und der angrenzenden Länder als stark rostig. Am meisten kam der Gelbrost und zwar besonders am Weizen und nächstdem Braunrost am Weizen und Roggen vor. Auch Schwarzrost war häufiger vorhanden. Die eingelangten Meldungen lauten bezüglich des Auftretens der Gefahr sehr verschieden, weshalb die Centralisierung des Pflanzenschutzes in ganz Deutschland und eine alljährliche Zusammenkunft und Beratung einer internationalen Kommission von Pflanzenpathologen und Meteorologen, durch welche die Begrenzung und das Fortschreiten von Pflanzenepidemien genauer festgestellt werden könnte, als höchst notwendig erscheint.

Weiterhin wird darauf hingewiesen, daß in hohem Grade vom Gelbrost nur die Landsorten des Winterweizens befallen wurden, während

derselbe auf den veredelten Winterweizensorten nicht oder nur ganz unbedeutend auftrat. Dieser Befund, auf welchen schon Eriksson hinwies, wurde durch zahlreiche Beobachtungen sichergestellt. Vom Braunrost wurden hauptsächlich die fremden Sorten befallen. Auf Winterroggen, Sommersaaten und Hafer stellte sich auch häufig der Schwarzrost ein, auf letzteren kam hier und da auch Kronenrost vor.

Zahlreiche, hochinteressante Fälle wurden von verschiedenen Seiten über den Einfluß einer günstigen oder ungünstigen Vorfrucht, sowie bezüglich der Düngung gemeldet. In Landsberg a. L. war der Landweizen auf dem ungedüngten Felde am stärksten rostig, während eine mit schwefelsaurem Ammon und Kainit gedüngte Parzelle den geringsten Befall aufwies. In Neumarkt a. R. erschien eine Kräftigung des Weizens durch 65 Pfund Chilisalpeter pro 1 Tagwerk als rosthemmend. In Odelshausen bei Dachau war der Weizen nach Mais sehr stark, nach Wicken stark und nach Klee fast gar nicht rostig. Anderswo wurde Weizen nach Kraut und Kartoffeln stärker vom Roste befallen, als nach Brache. Störmer beobachtete einen interessanten Fall in Langenbruck (Oberpfalz), wo ein Winterbartweizen nach nicht recht garer Kleeergrasstopfel ca. 50 cm hoch vollkommen rostbefallen und gelb, hingegen der nebenstehende nach Gründüngung, mit Beigabe von Kunstdünger, 70–80 cm hoch und fast rostfrei war. Braunrost trat auf einer mit Kali, Phosphorsäure und Stickstoff gedüngten Parzelle bei Wunsiedel bedeutend stärker auf, als auf der ungedüngt gebliebenen Parzelle.

Bezüglich der Witterungsverhältnisse wird bemerkt, daß die stärkere Infektion im Jahre 1904 besonders durch den zeitigen Eintritt des Frühjahres, das schon im April mitunter Tagestemperaturen von 25° C, nachts aber vielfach noch Fröste und stärkere Taubildungen brachte, begünstigt wurde.

Im Gegensatz zu früheren Ansichten wurde laut Beobachtungen vom Gelbrost besonders die früh gesäten Weizensorten stark angegriffen. Die Frage der enormen und frühzeitigen Verbreitung wird durch die bekannten diesbezüglichen Untersuchungen Klebahn's und Eriksson's beantwortet.

Eine starke Schädigung der Ernte wurde durch die Rostepidemie nicht hervorgerufen, welcher Umstand wahrscheinlich der großen Trockenheit zuzuschreiben ist, die eine ungemein rasche Reife herbeiführte. Interessant ist eine angeführte Annahme der niederbayerischen Landwirte, die die Sonderstellung des Gelbrostes schon erkannten, bevor die Wissenschaft auf dieselbe aufmerksam machte, da sie diese Rostart nicht fürchten. Schließlich wird darauf hingewiesen, daß eine genügende Ernährung der Pflanzen mit Phosphorsäure die Rostgefahr wesentlich herabsetze und die Bespritzung des Getreides mit Eisenvitriollösung auf die Pflanzen selbst eine Wirkung ausübe, als wären sie mit Chilisalpeter gedüngt worden. Letztgenanntes Verfahren verdient bezüglich des Einflusses auf den Rost weitere Beachtung.

Pósch (Grinád).

**Noak**, *Helminthosporium gramineum* Rabenh. und *Pleospora trichostoma* Wint. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1905. Heft 4.)

Verf. bestätigt in der hier näher zu besprechenden Arbeit die im Centralblatt für Bakteriologie von 1902 und 1903 von Diedicke gemachten Veröffentlichungen, hebt aber hervor, daß für seine Untersuchungen mit diesen kein Zusammenhang bestand.

Im einzelnen wird berichtet, daß es Verf. zum erstenmal Ende August 1902 gelang, die bereits künstlich gezüchteten, aber noch nicht in der Natur beobachteten Sklerotien von *Helminthosporium gramineum* an Gerststoppeln, bisher jedoch nicht an lebenden Gerstpflanzen, zu finden. Mitte März 1903 wurden in diesen Sklerotien die ersten Schläuche mit Sporen beobachtet, die eine Einreihung des Pilzes in die Gattung *Pleospora* gestatteten, so daß nunmehr wohl endgültig festgestellt sein dürfte, daß *Pleospora trichostoma* die Perithezienform des als *Helminthosporium gramineum* bezeichneten Urhebers der Streifenkrankheit der Gerste ist.

Die Askosporen von *Pleospora trichostoma* Wint. liefern nach den Untersuchungen von Verf. ein Mycel, auf dem sich Konidienträger und Konidien von *Helminthosporium gramineum*, wie durch Infektionsversuche bewiesen wurde, und Sklerotien ausbilden. Letztere produzieren entweder, bei genügender Luftfeuchtigkeit, *Helminthosporium*-Konidien oder bringen unter anderen, noch genauer zu untersuchenden Bedingungen in ihrem Inneren Schläuche mit den typischen Sporen von *Pleospora trichostoma* zur Entstehung. Da es nun Verf., wie erwähnt, gelang, wenigstens die Anfangsstadien für die Schlauchbildung in künstlich gezüchteten Sklerotien nachzuweisen — ein Versuch, dieselben durch Kältereiz zur Entwicklung reifer Perithezien zu bringen, hatte nur sehr beschränkten Erfolg — so glaubt er den Formenkreis der Entwicklung von *Pleospora trichostoma* klargelegt zu haben. Im Gegensatz zu Diedicke hat Verf. noch gefunden, daß die Keimkraft der Askosporen bei trockener Aufbewahrung lange Zeit anhält; eine Widerstandsfähigkeit, welche die Konidien noch zu übertreffen scheinen. Ja, ihr Keimschlauch kann bei Eintrocknung in eine Art Dauerzustand übergehen, und wächst, wieder in Nährlösung gebracht, an der Spitze weiter. Ebenso groß ist die Widerstandsfähigkeit der Konidien gegen Kälte.

Die Streifenkrankheit kann im Frühjahr, je nach den verschiedenen Keimungsmöglichkeiten, auf folgende Weise entstehen:

- 1) durch in Fruchtspelzen wucherndes Mycel,
- 2) durch äußerlich am Saatgut anhaftende Konidien, vielleicht auch Konidienträger.

(Die beiden, bisher vorwiegend beachteten Möglichkeiten.)

- 3) Durch im Frühjahr auf den Sklerotien oder auf im Halme steckenden Mycelnestern — erste Anlagen von Sklerotien, die sich nicht weiter entwickelt haben — zur Entwicklung kommende Konidien,

- 4) durch Askosporen.

Eine Erkrankung der ganzen Gerstpflanze, wie sie für die Streifenkrankheit charakteristisch ist, kann nur nach Infektion der ganz jungen Saat eintreten, wie Versuche zeigten. Der die Krankheit auf Gerste verursachende Pilz, übrigens nach Verf. ein noch in der Anpassung an Parasitismus begriffener Saprophyt, vermag weder durch Konidien noch Askosporen auf andere selbst nahe verwandte Gräser übertragen zu werden. Er ist auf *Hordeum distichum* beschränkt und befällt *Hordeum dist. erectum* leichter als *nutans*. Die Schädigung durch die Krankheit wird nach Verf. wohl wesentlich unterschätzt, zumal von Praktikern. Ueber Abwehrmaßregeln, etwa außer Saatgutbeize, noch tiefes Unterpflügen der Stoppeln, ist zur Zeit mangels dahingehender Versuche noch nicht Bestimmtes zu sagen.

Ehrenberg (Breslau).

**Kricheldorf**, Ueber Rübenmüdigkeit. (Deutsche landw. Presse. 1905. No. 25.)

Verf. bespricht die Maßnahmen zur Bekämpfung der Rübenmüdigkeit vom Standpunkt des praktischen Landwirts aus und schildert die in seiner eigenen Wirtschaft gewonnenen Erfahrungen. Die Versuche, rübenmüde Böden durch starke und fortgesetzte Stallmist- oder Kainitdüngungen wieder ertragsfähiger zu machen, scheiterten vollständig. Von einem gewissen Erfolge war der Anbau von Fangpflanzen. „Wenn man einem gänzlich rübenmüden Acker ein Brachjahr gewährt, darin vielleicht viermal Fangpflanzen baut, dann im folgenden Jahre noch eine Fangpflanzensaat gibt und nun Kartoffeln pflanzt, so kann man mit einiger Sicherheit damit rechnen, wieder zwei bis drei annähernd normale Rübenerten von dem Acker nehmen zu können.“ Eine vollständige Heilung der Krankheit ist aber auch damit nicht zu erzielen. Etwas besser ist der Erfolg, wenn nach vier- bis fünfjähriger, möglichst krautrein gehaltener Luzerne Kartoffeln in reichlicher Stalldüngung angebaut werden und auf diese dann die Rüben folgen.

Verf. ist der Ansicht, daß alle empfohlenen Mittel einen gewissen Erfolg haben können, wenn sich die Krankheit noch im Anfangsstadium befindet, daß jedoch ein Feld, welches unter sonst günstigen Bedingungen nur mehr die Hälfte oder noch weniger des normalen Ertrages hervorzubringen vermag, auf keine Weise mehr zu „sanieren“ sei.

Vogel (Bromberg).

**Geschwind, L.**, Le goitre de la Betterave (Wurzelkropf der Zuckerrübe). (La sucrerie indigène et coloniale. T. LXVI. 1905. p. 207.)

Während Stoklasa die Ursache der Wurzelkropfbildung in dem Auftreten von Nematoden der Gattung *Tylenchus* sieht, schreibt Bubák diese Erscheinung einer Milbenart *Histiostoma Feroniarum* zu; Stift schließlich hat auch milbenfreie Kropfrüben in Händen gehabt. Zur Klärung dieser widersprechenden Ansichten hat Verf. Kropfrüben untersucht und im Wurzelkropf (nicht aber in den gesunden Partien der Rübenwurzel) unterschiedliche Larven, Milben, *Tylenchus*, Pilze, Kokken und Bakterien gefunden. Sowohl die Nematoden der Gattung *Tylenchus* als auch die Milben sind aber als Saprophyten zu betrachten, da sie Verf. stets sowohl in ensilierten als durch Trockenfäule, *Rhizoctonia* und *Phoma Betae* alterierten Rüben gefunden hat. Die Milben sind daher nichts anderes als Bewohner alterierter organischer Stoffe. (Die diesbezüglichen Beobachtungen Stifts scheint Verf. nicht zu kennen. Der Ref.) Verf. hält auf Grund der anatomischen Struktur die Ursache der Kropfbildung als eine mechanische, welche in einer geringeren oder größeren Verletzung der Hauptwurzel besteht, insoweit als die Grundzone eines der aus Fasern und Gefäßbündel bestehenden Ringe der Wurzel zu einer Zeit beschädigt wurde, als die Wachstumsenergie der Wurzel eine sehr starke war. Am leichtesten läßt sich unter den sonst günstigen Umständen die Entstehung des Rübenkropfes dann erklären, wenn die Verletzung der Wurzel in der Fläche stattfindet, wo die Entwicklung am stärksten ist, nämlich in der auf den zwei zuckerhaltigen Rillen senkrecht stehenden Ebene. Es entstehen nun neue Zellen und zwar in der zentripetalen Richtung mit Bezug auf den Mittelpunkt der verletzten Fläche. Je mehr die Verletzung zurückgeht, um so weniger findet das neugebildete Gewebe eine



genügende Fläche, um sich ansetzen zu können; es muß sich daher gegen die äußere Seite werfen und drängt die alten Gewebe der Wurzel in derselben Richtung zusammen. Dadurch entsteht ein wulstförmiger fleischiger Ring, welcher, wenn er einmal angesetzt ist, sich immer mehr und mehr entwickelt und schließlich die charakteristische Form eines Schwammes erreicht. Als Beweis für diese Theorie führt Verf. die Tatsache an, daß sich der Kropf gewöhnlich in der Fläche, in welcher die Rübe das stärkste Dickenwachstum aufweist, befindet, d. h. genau dort, wo die Energie zur Trennung der Gewebe die stärkste ist.

Stift (Wien).

**Briem**, Wurzelbrandentdeckung und kein Ende. (Blätter für Zuckerrübenbau. 1905. No. 11.)

Verf. erwähnt eigene Beobachtungen aus der Praxis, aus denen hervorgeht, daß ein Feld, welches im Vorjahr sehr stark mit wurzelbrandkranken Rüben besetzt war, im darauffolgenden Jahr wieder mit Rüben bebaut, sich zunächst als gänzlich wurzelbrandfrei erwies. Erst ein starker, den Boden sehr festschlagender Regen brachte, wenn auch schwache, Wurzelbranderscheinungen. Nach Ansicht des Verf. springt hier der Einfluß der Bodenbeschaffenheit förmlich in die Augen.

Ehrenberg (Breslau).

**Klenker**, Ueber Wurzelbrand an Zuckerrüben. (Blätter für Zuckerrübenbau. 1905. Heft 13.)

Verf. hebt hervor, daß nach seiner Meinung nie Beschädigungen der Rüben durch Insekten Ursache von Wurzelbrand sein können. Dagegen führt er ein Beispiel an, nach dem eine Schädigung des Bodens durch lange Zeit darauf stehendes Wasser mit dem Wurzelbrand ursächlich zusammenhängen soll. Als Heilmittel wird Verbesserung des Bodens durch Kalk oder Erde (kalkhaltige?) und fleißiges Bearbeiten empfohlen.

Paul Ehrenberg (Breslau).

**Uzel, H.**, Ueber den auf der Zuckerrübe parasitisch lebenden Pilz *Cercospora beticola* Sacc. (Zeitschr. für Zuckerindustrie in Böhmen. Bd. XXIX. 1905. p. 501—512. Mit 2 Taf.)

Wohl überall dort, wo Zucker- und Futterrüben angebaut werden, außer in den verschiedensten Gegenden von Europa auch in Nord- und Südamerika, sowie auf den Azoren kommt die zuerst unter dem Namen *Depazea betaecola* DC. beschriebene *Cercospora beticola* Sacc. vor. Ende Juni und im Juli bilden sich auf den Blättern unregelmäßige graue Flecken, die von einem roten oder rotbraunen Rande umgeben sind und sich selten über einen Blattnerven hinaus ausdehnen, dafür mit anderen zusammenfließen; in nassen Jahren sind die Blätter ganz mit diesen Flecken besät, sonst treten sie mehr vereinzelt auf und zwar nie auf jungen Blättern. Im Falle einer stärkeren Infektion geht die Mehrzahl der älteren Blätter zu Grunde, was eine Verminderung des Gewichtes und des Zuckergehaltes zur Folge hat, die 1,2—2,6 Proz. betragen kann. Die Konidien des Pilzes, der zu den Fungi imperfecti gehört, sind nicht mit Enzymen von solcher Energie ausgestattet, daß sie die Cellulosen und Hemicellulosen der Zellwand hydrolysieren können, sondern können nur durch die Spaltöffnungen in das Blatt eindringen. Das sich verzweigende Mycelium verstopft die Spaltöffnungen, der Gasaustausch der benachbarten Zellen wird dadurch beeinträchtigt,

sie erkranken und degenerieren und setzen nun dem Mycelium nur noch einen schwachen Widerstand entgegen. Jeder derartige Flecken, an welchem das Blattgewebe im Vergleiche mit der Umgebung sehr verdünnt ist, stellt das Resultat einer besonderen Infektion dar, alle Fäden des Myceliums mit den durch die Spaltöffnungen hindurchwachsenden konidienbildenden Stielchen stellen zusammen ein einziges Individuum des Pilzes dar. Verf. beschreibt die Sporenbildung genauer und bildet sie ab, um dann auf die Entstehung der Krankheit näher einzugehen. Die Uebertragung findet durch Wind, Regen, Tau, Tiere und auf andere Weise statt; nach der Infektion dringen die Fäden, die zunächst zwischen den Zellen wachsen, auch in diese selbst ein, der Inhalt wird aufgebraucht, die befallenen Zellen gehen zu Grunde. Mit dem vom Pilz getöteten und abgefallenen Laube kommen die sehr zahlreichen Sporen in den Boden, wo sie überwintern, eine noch größere Anzahl aber bei der Ernte, wo alle schlechten Blätter zurückbleiben, um im nächsten Jahre eine neue Infektion zu verursachen. Nach A. B. Frank überwintert wahrscheinlich auch das Mycelium, und zwar in den Flecken auf dem Laube jener Rüben, die zu Samenrüben bestimmt sind. Des weiteren findet auch eine Infektion der Blütenstände statt, so findet man auch neben anderen Rübenparasitenkeimen *Cercospora*-Konidien in den Samenknäueln. Bezüglich der Bekämpfung der Krankheit, der übrigens nicht alle Rübensorten in gleichem Maße ausgesetzt sind, ist es als bestes Mittel zu empfehlen, wenn man einige Jahre hindurch an einer verseuchten Stelle keine Rüben anbaut; die massenhaft im Boden befindlichen Sporen verlieren so ihre Keimfähigkeit. Ferner ist alles welke, halbwelke oder faule Laub zu sammeln und zu verbrennen, noch besser ist es, alle erkrankten Blätter überhaupt zu entfernen, wenn ihre Anzahl nicht so groß ist, daß dadurch das Wachstum der Zuckerrübe zu sehr beeinträchtigt wird. An chemischen Bekämpfungsmitteln wurde Bordeauxbrühe empfohlen, der man nach B. D. Halsted in Amerika noch Soda, Pottasche und Ammonium hinzufügt; allerdings ist es noch nicht festgestellt, ob die erlangten Vorteile die Kosten aufwiegen. Auch die Desinfektion der Samenknäuel wurde mit verschiedenen Mitteln versucht, so mit 1-proz. Karbolsäure, mit 1—2-proz. Kupfervitriollösung, oder mit einer 2—4-proz. Lösung von Kupfervitriol in Kalkmilch; ferner wurde Phosphorsäure, und in neuerer Zeit mit vorzüglichem Erfolge konzentrierte Schwefelsäure verwendet, die dann mit Wasser abgewaschen und mit Kalkmilch neutralisiert wird; die Keimfähigkeit eines so gebeizten Samens ist bedeutend erhöht. Die Herstellung und Verwendungsweise der Desinfektionsmittel wird ausführlich besprochen. Düngemittel machen die Pflanze gegen die Infektion widerstandsfähig; Versuche ergaben, daß Pflanzen, die auf einem mit Ammoniumsulfat gedüngten Felde wuchsen, am wenigsten der Infektion ausgesetzt waren, in hohem Maße dagegen gekalkte Felder. Dann werden noch die anderen, Blattflecken verursachenden Blattpilze besprochen, nämlich *Fusarium betae* Rabenh., *Septoria betae* West., *Phyllosticta betae* Oud. und *Ramularia betae* Rostrup. Der Abhandlung sind zwei Tafeln beigegeben, die die besprochenen Verhältnisse illustrieren, sowie ein über 20 Nummern umfassendes Verzeichnis der teilweise czechischen und magyrischen Literatur.

R. Wagner (Wien).

**Zimmermann, Hugo**, Eine neue Tarsonemusart auf Gartenerdbeeren. (Zeitschr. d. mähr. Landesmus. Bd. V. 1905. p. 91—102.)

In den Obstanlagen der Obst- und Gartenbauschule zu Eisgrub zeichneten sich einige Erdbeerpflanzen durch auffallendes, unansehnliches Aussehen, Entfaltung von kleinen Blättern sehr unangenehm aus; sie wiesen das Aussehen auf, wie es von Blattläusen befallene und deformierte Blätter haben. Aphiden waren aber an den verkrüppelten Blättern nicht nachweisbar, auch sonst keine Schädlinge tierischer oder pflanzlicher Abstammung.

Erst die Untersuchung der anscheinend normalen, zusammengefalteten, noch von den braunen Niederblättern ganz oder teilweise eingeschlossenen jungen Blättern zeigte die Anwesenheit von bräunlich oder weiß gefärbten Milben, die sich auf der Unterseite der Falten, also auf der morphologischen Oberseite der Blätter in ziemlicher Masse vorfanden.

Trouessart in Paris bestimmte die Schädlinge als *Tarsonemus culmicolus* E. Reut. Die Männchen dieser Tiere weichen von den Weibchen erheblich ab, wenn auch diese und die Larven große Uebereinstimmung zeigen.

1902 zeigte die Milbe in den Erdbeerkulturen eine größere Ausbreitung, wobei auch zum ersten Male Männchen gefunden wurden.

1903 hatten die Milben ziemlich abgenommen, da die befallenen Stöcke nach Möglichkeit vernichtet waren.

1904 machten sie sich stärker bemerkbar, wobei sich dann herausstellte, daß man es mit einer neuen Art zu tun hatte, welche Zimmermann *Tarsonemus fragariae* benennt.

Bei den Versuchen zur Bekämpfung der Plage zeigte sich, daß flüssige Kontaktgifte gar kein Resultat ergaben, weil die Bespritzungsflüssigkeit nicht in die Blattfalten eindrang. Gefangene Tiere starben in 1-proz. Tabakextraktlösung sehr bald, Bespritzungen mit dem Mittel hatten negativen Erfolg. Bei 30—40-proz. Zusatz von Alkohol erreichte man erst seinen Zweck, vernichtete aber auch die Herzblätter und Vegetationszweige der Erdbeerstauden. Ebenso wenig hatte eine Lösung von 1-proz. Rohpyridin in 2-proz. Schmierseifenlösung einen Erfolg.

Schwefelkohlenstoffdämpfe waren für Milben wie Pflanzen gleich schädlich, ebenso Formalin. Versuche mit Blausäuregas wurden nicht angestellt. Mit einer Vernichtung befallener Stöcke läßt sich dem Uebel steuern.

Eine Tafel enthält 10 Abbildungen.

E. Roth (Halle a. S.).

**Köck**, Ein für Oesterreich neuer Rosenschädling. (Zeitschr. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich. 1905. Heft 7.)

Verf. geht auf das Auftreten eines der bisher nur als Saprophyten bekannten Gattung *Coniothyrium* angehörenden Pilzes ein, welcher sich in der Umgegend von Krems als Parasit an Rosen in ziemlicher Ausdehnung zeigte.

Während Verf., um der parasitären Natur des Pilzes, den er als *Coniothyrium Fuckelii* anspricht, sicher zu sein, noch Infektionsversuche anstellte, wurde durch Laubert eine Abhandlung über den gleichen Schädling veröffentlicht (Arbeiten der biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft am kaiserlichen Gesundheitsamt in Berlin. Bd. IV. Heft 5), nach der in der Umgegend von Berlin, in Oberschlesien und Mecklenburg sein Auftreten an Gartenrosen bemerkt wurde.

Infektionsversuche mit dem neuen Schädling, dessen Gattung übrigens bereits von Sorauer nicht als streng saprophytisch aufgefaßt wurde, verliefen bisher negativ, so daß Verf. die Ansicht ausspricht,

eine Infektion der lebenden, jungen Triebe, wo allein die Krankheit parasitär aufzufassen sei, komme nur unter ganz besonders günstigen Verhältnissen vor. Hier ist in erster Linie die Ueberwinterung der Rosen zu nennen, wenn im Herbst die Stämme reihenweise umgebogen und in Gräben, mit Latten und Erde zugedeckt, überwintert werden. Die bei diesem Verfahren leicht vorkommenden Verletzungen der Oberhaut zarterer Teile durch die Dornen eines anderen Stockes, und die in den bedeckten Gräben vorhandene feuchtwarme Luft müssen jede Infektion sehr begünstigen. — Besonders empfindlich sollen die Thea-Rosen sein, doch nur, wenn sie im Sommer stark geschnitten worden sind.

Bekämpfungsversuche mit fungiziden Mitteln sind eingeleitet.

Ehrenberg (Breslau).

**Olivier, E.**, Faune de l'Allier: Ordre des Hémiptères, Homoptères, Aphides. (Rev. scient. du Bourbonnais et du Centre de la France. Moulins. T. XVII. 1904. p. 89—96, 109—122.)

Unter den für das Départ. de l'Allier angeführten Hemipteren ruft eine größere Zahl auf der Wirtspflanze Deformationen hervor; der Autor geht aber auf diese biologischen Verhältnisse in keiner Weise weiter ein. Von den Homopteren seien erwähnt: *Livia juncorum* und *Psylla buxi*; von den Aphiden: *Aphis persicae*, *A. ribis*, *Schizoneura lanigera*, *S. lanuginosa*, *Tetraneura ulmi*, *Pemphigus affinis*, *P. spirothecae*, *P. bursarius*, *P. pyri-formis* u. s. w., *Adelges abietis*, *A. strobilobius* u. s. w.

Houard (Paris).

**Marchal, P.**, Observation biologique sur un parasite de la Galéruque de l'Orme, le *Tetrastichus xanthomelaenae* (Rond.). (Bulletin de la Soc. entom. de France. Paris. 1905. p. 64—68.) — Identification du parasite des oeufs de la Galéruque de l'Orme, *Tetrastichus xanthomelaenae* (Rond.). (Ib. 1905. p. 81—83. 1 fig.)

I. Der Blattkäfer der Ulme (*Galerucella luteola*) hat aufgehört, die Ulmen der Gärten und Anlagen zu verheeren, dank einer kleinen Chalcidie, dem *Tetrastichus xanthomelaenae* (Rond.) Marchal, der auf seine Kosten lebt. Der Verf. verfolgt Schritt für Schritt die interessante Biologie dieses Parasiten. Der *Tetrastichus* setzt sich auf der Spitze eines Eies des Blattkäfers fest, und versenkt während einer Minute mehrere Male seinen langen Saugrüssel hinein. Dann dreht er sich um, leckt gierig die kleine Wunde ab, die er gesetzt hat, und dreht sich wieder um. Darauf versenkt er wiederum eine halbe Minute lang seinen Rüssel in die Oeffnung und leckt gierig die Wunde ab. Nach einer Pause kommt der Parasit wieder an das Ei heran und fängt gegen zwanzig Mal dieselben Operationen wieder an.

Der Zweck dieser eigentümlichen Manipulationen ist, dem *Tetrastichus* eine passende Nahrung zu verschaffen und eine Unterkunft für seine Eier, die man in geringer Zahl findet.

II. Angesichts der Schwierigkeiten, die er gefunden hat, um die Chalcidie als Parasiten der Eier der Blattkäfer der Ulme festzustellen, beschreibt der Verf. in genauerer Weise seine Identifizierung und gibt eine kurze Beschreibung davon.

Houard (Paris).

**Jumelle, H.**, De l'influence des endophytes sur la tubérisation des *Solanum*. (Revue générale botanique. Paris. T. XVII. 1905. p. 49—59.)

Die Untersuchungen von N. Bernard suchen zu beweisen, daß die Knötchenbildung, z. B. bei *Solanum tuberosum*, die Folge einer Infektion der Wurzeln durch einen noch nicht bestimmten, endophytischen Pilz ist. Verf. hat die Versuche Bernards nachprüfen wollen und hat als Untersuchungsobjekt *Solanum Commersoni*, eine wilde, südamerikanische Art, genommen. Er hat sehen wollen, ob man nicht durch eine künstliche Infektion dieser Pflanze in dem Augenblick, wo die Knollen in den Boden gesetzt werden, eine Vermehrung der Knollenbildung erzielen könnte; das heißt, ob man mit einem Schlage die Veränderungen erreichen könnte, die man sehr langsam im Laufe der Zeit bei *Solanum tuberosum* herbeigeführt hat.

Auf einem Versuchsfelde wurden die Knollen von *Solanum Commersoni* mit Sporen infiziert, die von einem auf Kartoffelscheiben in Petrischen Schälchen gezüchteten Mycelium stammten. Am Ende des Jahres ist der Ertrag ebenso hoch gewesen bei den nicht infizierten Kontrollpflanzen, wie bei den künstlich infizierten. Angesichts dieses wenig beweisenden Resultats vermutet der Verf., daß er den Infektionsversuch mit einem von *Solanum Commersoni* und nicht von *S. tuberosum* stammenden Mycel hätte vornehmen sollen, was er sich vorgenommen hat auszuführen, wenn er die wirklichen Endophyten des *Solanum* isoliert haben wird.

Das Problem der Knollenbildung ist also noch sehr dunkel, und es ist nicht unwichtig, die ausgeführten Versuche zur Kenntnis zu bringen, auch wenn sie nur einen kleinen Beitrag zu dem Thema liefern.

Houard (Paris).

**v. Oven, Ueber eine Fusariumerkrankung der Tomaten.**  
(Landwirtsch. Jahrbücher. 1905. Heft 3/4.)

Ende 1904, wie bereits auch schon 1901, wurde in der Nähe von Berlin eine unter den Tomaten auftretende Epidemie beobachtet, die übrigens auch bei der Aufbewahrung dieser Früchte eine große Rolle spielen kann. Reife wie unreife Früchte zeigten zunächst an der Griffelansatzstelle einen schwarzen Fleck, von dem aus dann Erweichung sich über die ganze Frucht ausdehnte, um endlich einer Einschrumpfung Platz zu machen.

Bei näherer Untersuchung konnte Verf. die Möglichkeit einer Makrosporiumfäule ausschließen, ebenso zeigte es sich, daß die übrigens zahlreich vorhandenen Bakterien im vorliegenden Krankheitsfalle nur eine sekundäre Erscheinung waren, und erst auftreten, wenn das Gewebe durch einen anderen Parasiten zerstört ist. Hierbei erscheint in dem noch sauren Substrat ein säureliebender Bacillus, während ein zweiter erst dann auftritt, wenn im weiteren Verlauf der Krankheit das Substrat alkalisch geworden ist. — Dagegen konnte mit Sicherheit ein neues, außerordentlich variationsfähiges *Fusarium* — *erubescens* Appel und v. Oven nov. spec. — als Krankheitsveranlassung festgestellt werden. Bezüglich der Infektion wurde ermittelt, daß ein Durchdringen der gesunden Fruchthaut durch den Pilz unter normalen Verhältnissen nicht stattfindet, wohl aber, wenn die Frucht in direkte Berührung mit einer kräftigen Vegetation des Pilzes tritt; ferner, daß Wunden als Eintrittspforten dienen.

Von den Vermehrungsformen, nämlich Mikro- und Makrokonidien, Chlamydosporen und Sklerotien, sind die letzteren als eine Ueberwinte-

rungsform zu bezeichnen, die einer großen Ausbreitung im Frühjahr überaus vorteilhaft ist.

Zum Schluß gibt Verf. eine Beschreibung der neuen Species und Bekämpfungsmaßregeln.

(Ob die vom Verf. durchgeführten Versuchsreihen ausreichen, das neue *Fusarium* mit Sicherheit von *Fusarium Solani*, *Fusarium putrefaciens* oder *Fusarium rhizogenum* zu trennen, sei dahingestellt, ebenso ob zwei nur sehr kurz geschilderte Versuche genügen, um des Verf. Behauptung zu stützen, daß der Pilz im stande ist, durch ausgeschiedene enzymatische Giftstoffe lebende Zellen zu töten. Es ist dies ja an sich nicht unwahrscheinlich.)

Ehrenberg (Breslau).

**Winkler, Einige tierische Schädlinge an Kakaofrüchten.**  
(Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1905. Heft 3.)

Verf. bespricht einige neben der Kakaorindenwanze noch erwähnenswerte tierische Kakaoschädlinge.

Zunächst wird der Ertrag durch Ameisen vermindert, welche die mehr oder weniger ausgebildeten Früchte abnagen. Es dürfte dabei auch noch von den Tieren Sekret in die Wunden gespritzt werden, um die Ausscheidung der Pflanzensäfte zu vermehren. Der so verursachte Schaden kann pro Baum über 25 Proz. betragen. Die Ameisenart war *Camponotus brutus* Forel.

Auch oberflächlich benagen Ameisen die Kakaofrüchte, wobei besonders *Cremogaster africana* Mayr var. nov. *Winkleri* schädlich wirkt; weniger ungünstig scheinen *Oecophylla smaragdina* Fabr. var. *longinoda* Latr. und *Camponotus akvapimensis* Mayr sich zu zeigen. Diese beiden Sorten züchten in besonders gebauten Nestern Schildläuse, und zwar die letztgenannte die *Stictococcus Sjöstedti* Cock, die an den Früchten und Fruchtsielen sitzend den Saft saugt. Die Ameisen würden durch Leimringe und Zerstören ihrer Nester leicht zu bekämpfen sein.

Außerdem ist noch ein zu den Erdflöhen gehörender Käfer, *Crepidodera costatipennis* Jacoby zu erwähnen, der die Blätter durchlöchert und die Früchte benagt, sowie eine Raupe, die zur Gattung *Euproctis* Hbn. gehört. Ihr Schaden ist ein geringerer.

(Bezüglich der Kakaorindenwanze, die anfangs erwähnt ist, sei auf die in dieser Zeitschrift unlängst referierten Berichte der pflanzenpathologischen Expedition von Dr. Busse hingewiesen, wo auch andere Kakaoschädiger behandelt sind.)

Ehrenberg (Breslau).

**Krasser, Fridolin, Ueber eine eigentümliche Erkrankung der Weinstöcke.** (II. Jahresbericht der Vereinigung der Vertreter der angewandten Botanik. Berlin 1905. p. 73—84. Mit 4 Textabbildungen.)

Unter „Krautern“ der Weinstöcke versteht man folgende Erscheinung: Sehr starke Verlaubung des Kopfes, kurze Internodien der Triebe, überreiche Knospenbildung, seltener Blüten- bzw. Traubenansatz. Verschiedene Edelsorten „krautern“ in auffallendster Weise auf Solonis resp. Gamay Couderc; doch krautert insbesondere der „grüne Veltiner“ auf Solonis, „Welschriesling“ und „Gutedel“ auf Gamay Couderc. Die Konstituenten der Solonis und Gamay Couderc „krautern“ nicht. Kober (1901) hält das „Krautern“ oder „Kümmern“ für eine Wachstums-

störung, die durch die Hemmung, welche die Saftzirkulation an der Veredelungsstelle erfährt, hervorgerufen wird. Gaunersdorfer (1901) hält die Krankheit auch für eine Wachstumsstörung, die in erster Linie auf dem Kahlschnitt beruht. Die Rebe vertrocknet von der Schnittstelle bis zum nächsten Auge und es tritt nach einiger Zeit an dem Grundstücke gegen das frische Holz der „Wundkern“ auf. Dadurch muß eine Störung in der Leitung stattfinden und es kann weder Luft noch Wasser durch die Gefäße gepreßt werden. An einem über einer derartigen mit Wundkern versehenen Stelle stehenden Rebtriebe tritt eine gänzliche oder teilweise Saftstockung ein. Verf. hält eine organische Erkrankung des Protoplasmas bestimmter Regionen als die Ursache des „Krauterns“ und gibt dafür folgende Gründe an:

1) Weinstöcke, die „krautern“, werden nach Jahren wieder normal und umgekehrt. 2) Daher kann es sich nur um Ernährungsstörungen handeln, welche auf einer Erkrankung der Zellen beruhen, nicht aber auf einer einfachen Leitungsstörung infolge von Absperrung des aufsteigenden Saftstromes durch Verkernung, Wundholz, Gummi- oder Tyllenbildung. 3) Mangel an Calcium oder Kalium im Boden kann als Ursache unbedingt nicht angesehen werden, da an einem und demselben Stocke krauternde und normale Triebe vorhanden sind. Die Zellen bestimmter Knospen sind eben nicht im stande, die für das Wachstum notwendigen Elemente in normaler Weise zu assimilieren.

Matouschek (Reichenberg).

**Degrully, P.,** Les invasions d'ampelophages. (Progrès agric. et vitic. 1904. p. 519—520.)

In den Weinbergen von Südfrankreich hatte sich der Spinner *Chelonia caja* (Eccelle martre, „Taure bourrude“ der dortigen Winzer) im Jahre 1903 besonders stark vermehrt. Er schien die Weinblätter den wildwachsenden Pflanzen, seiner gewöhnlichen Nahrung, vorzuziehen. Als bestes Bekämpfungsmittel wird Absuchen der Reben am Morgen und Abend angegeben. Die Raupen fressen an den heißen Tagesstunden nicht, sondern graben sich in den Boden. Ein einziger Weinbauer hatte in seinen Weinbergen durch Einsammeln 400 000 Raupen vernichtet.

Dewitz (Geisenheim).

**Glard, A.,** L'„Ino ampelophaga“, ravageur des feuilles de la vigne en Palestine. (Rev. viticult. T. XXI. p. 594—592.)

Der zu den Zygäniden gehörige Schmetterling *Ino ampelophaga* Bayle wird besonders durch die erste in den Frühling fallende Raupengeneration gefährlich. Diese frißt nicht allein die jungen Blätter, sondern auch die Knospen des nächsten Jahres und selbst die Borke. Das Weibchen legt ungefähr 300 Eier. Die Schmetterlinge fliegen träge am Tage wie die von *Zygaena*. Die Raupen halten sich auf der Unterseite der Blätter auf. Obgleich Boisduval behauptet hat, daß die Raupe nicht ampelophag sei, hat man dieses schon seit lange in Italien, Oesterreich und in der Krim festgestellt. Besonders hat sich Passerini mit diesem Gegenstande beschäftigt. In Frankreich ist die Art sehr selten. Sie ist bei Manosque (Basses-Alpes) gefunden worden.

Dewitz (Geisenheim).

**Ravaz, L. et Vidal, D.,** Cause du dépérissement des vignes plantées dans les sables en Algérie. (Progrès agric. et vitic. 1904. p. 612—615. 5 fig.)

Die in den Sanddünen von Staouéli (Algier) gepflanzten Reben leiden seit mehreren Jahren an einer charakteristischen Krankheit. Die Erscheinung beschränkt sich auf das sandige Terrain von Staouéli. An gewissen Stellen der Weinberge vermindert sich die Vegetation allmählich. Die Blätter nehmen an Zahl und Größe ab; ebenso werden die Trauben und die Beeren immer kleiner. Dieselben kommen nicht zur völligen Reife. Es ist mehr Fruktifikation als Vegetation vorhanden. Die Wurzeln tragen Anschwellungen, welche an die von *Phylloxera* hervorgerufenen Krankheitserscheinungen erinnern. Die Anschwellungen enthalten Eier oder Entwicklungsstadien von *Heterodera radicicola* Greef. Dieser Nematode ist als Parasit des Weinstockes beobachtet worden in Italien, Portugal, Frankreich und Spanien. Aber niemals ist die Krankheit der Wurzeln so accentuiert gewesen. Die Erscheinung ist in dem vorliegenden Falle ebenso ausgesprochen wie bei *Phylloxera*. Als Bekämpfungsmittel wird Schwefelkohlenstoff vorgeschlagen. Da sich aber die Parasiten im Innern der Wurzeln befinden, so läßt die Anwendung dieses Mittels nach Ansicht der Verf. keinen besonderen Erfolg erwarten. Dewitz (Geisenheim).

**Reiche, C., Bau und Leben der chilenischen Loranthacee**  
*Phrygilanthus aphyllus*. (Flora. Bd. XCIII. 1904. p. 271–297.  
 Mit Tafel V.)

*Loranthus aphyllus* ist ein Parasit der *Cereus*-Arten (insbesondere der baumartigen: *C. chilensis* [= *C. quisco*], *C. Coquimbani*), nicht aber anderer gleichzeitig vorkommender *Cactaceen*, z. B. *Echinocactus* und *Opuntia*; Verbreitungsgebiet des *Loranthus*: von Chañarcillo (Prov. Atacama) (27° 45') südlich bis Colchagua (34° 30') und zwar nur in Chile; die Angaben, daß er auch in Peru und Argentinien vorkomme, beruhen wahrscheinlich auf Irrtum.

Verzweigung wirtelig, weiter oben dekussiert, in der Blütenregion durch Verschiebungen alternierend. Blätter auf schuppenartige Fortsätze der Stammoberfläche unterhalb der Verzweigung reduziert. Inflorescenzen: Trauben dekussierter Blütenpaare. Der Kelch wird erst nach der Krone angelegt und entbehrt der Gefäßbündel, weshalb Verf. an seiner wahren Kelchnatur zweifelt; immerhin alternierte er mit der Krone. Später, an der Frucht, stellt er einen ungegliederten Wall dar. Durch Zurückrollen der Tepala werden Staubblätter und Griffel frei.

Anatomie: Gefäßbündel, sowie sekundäres Phloëm und Xylem sind durch sehr enge Elemente ausgezeichnet. Bei sonst großer Ähnlichkeit mit dem Bau anderer Loranthaceen fällt die zentrale Lage des Gefäßbündelringes (bezw. die Breite des Riudenparenchyms) auf, was mechanisch wohl mit dem wagrechten Abstehen der *Loranthus aphyllus*-Stengel von der Wirtspflanze zu erklären ist. Periderm wird nicht gebildet; Jahresringe im Holzkörper undeutlich.

Die Mitteilungen über Fruchtknoten, Samenanlage, Embryosack etc. bringen nicht viel Neues. Aus Mangel an geeignetem Untersuchungsmaterial mußte manche sich hier aufdrängende Frage unbeantwortet bleiben.

Die Bestäubung erfolgt nach Verf. nicht — wie Johow annimmt — regelmäßig durch Kolibris, vielmehr kommt eine Wechselbestäubung in der Regel auf folgende höchst einfache Weise zu stande. Da die Büsche von *Loranthus aphyllus* am *Cereus* vielfach in Längs-



reihen auf den Rippen stehen, fällt der körnige, trockene Pollen obenstehender Blüten auf die Narben der unterhalb stehenden.

Die Samenverbreitung wird von drosselartigen Vögeln besorgt. Die Samen keimen zwar ohne Ruhepause, indessen gelangt nur ein sehr kleiner Bruchteil zur Keimung. Versuche des Verf., einen im Garten gezogenen *Quisco* mittels angeklebter *Loranthus*-Samen zu infizieren, blieben erfolglos. Der Keimling erreicht bedeutende Länge, das Radikulierende schwillt stark an, ist geotropisch unempfindlich und legt sich schließlich mit einem Kranz engstehender Haare der Epidermis des Wirtes an, um sodann die Haustorien zu entsenden. Der intramatrikale Teil des Parasiten ist äußerst zart, durchzieht das Gewebe des Wirtes nach vielen Richtungen, dringt auch in seitliche Verzweigungen ein und tritt wieder zu Tage, um Blütenbüschel zu bilden. Dabei werden die Stellen oberhalb der Stachelbündel bevorzugt; wahrscheinlich deshalb, weil hier die lebhafteste Stoffzufuhr erfolgt. Denn an diesen Stellen bildet auch der Wirt seine Blüten und legt vegetative Sprosse an.

Neger (Tharandt).

**Enderlein, G.,** Läusestudien. III. Zur Morphologie des Läusekopfes. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1905. p. 626—638. 5 Fig.)

Verf. erwidert zunächst auf die Verwahrungen, die *Cholodowsky* (l. c. 1904. p. 368—370) gegen den ersten Teil von E.s „Läusestudien“ (l. c. p. 121—147), namentlich gegen dessen Kritik von Ch.s embryologischer Untersuchungsmethode des Anoplurenbaues eingelegt hatte; er bekämpft dessen Folgerung, daß die postembryonalen Mundteile der Läuse nachträgliche Erwerbungen, also sekundäre Organe seien, die zu den embryonalen Anlagen in gar keiner Beziehung stünden, hält vielmehr daran fest, daß sie sich auf die entsprechenden Gebilde der anderen Hexapoden folgerecht zurückführen ließen. Weiter bringt er aus neuen Untersuchungen Tatsachen herbei, die seine früheren Deutungen stützen. So werden zu den bereits beschriebenen Mandibeln zwei Muskelstränge aufgeführt, als Sehnen des Mandibelextensors und Mandibularflexors; ihre starke Entwicklung wird als Beweis für die Funktionsfähigkeit der Vorderkiefer betrachtet, wenngleich die Funktion selber dem Verf. noch unklar ist. Ferner berichtet er über Einzelheiten des Mundkegels, Labiums, Hypopharynx und der Maxillen und gelangt zu dem Schlusse, daß der alte Name „Saugrüssel“ für den Lausrüssel morphologisch berechtigt ist. Die Unterschiede der Lausmundteile von denen der übrigen Rhynchoten sind nur gradweise und berechtigen — wie Verf. schon früher betonte — nicht dazu, erstere als besondere Ordnung abzutrennen. „Die Entognathie ist nur bedingungsweise, da die Läuse bei der Saugtätigkeit den Saugrüssel größtenteils aus dem Kopfe herausstülpen, und vermutlich nur dadurch entstanden, daß das haarfeine Saugorgan außerhalb des Kopfes der Verletzung zu sehr ausgesetzt war und zum größeren Schutze beim Nichtgebrauch sich immer mehr in den Kopf in eine hierdurch sich bildende Tasche zurückzog.“ — Endlich wird noch etwas bei der Form und Lagerung der die Kopfkapsel bildenden Skelettstücke verweilt.

Jacobi (Tharandt).

**Barbey, A.,** Biologische Beobachtungen an *Hylastinus fankhauseri* Reitter, dem Borkenkäfer des Goldregens. (Schweiz. Zeitschr. f. Forstwesen. Jahrg. LVI. 1905. p. 93—99. 1 Taf.)

Der Goldregenbastkäfer bringt seine Brut nur an absterbenden

Teilen des Baumes an, besonders in geknickten Aesten distal von der Bruchstelle, vermeidet aber immer die noch saftigen Strecken, die noch den eigentümlichen Geruch des Cytisusholzes führen. Der Grund ist, daß das Harz des Goldregens giftige Eigenschaften besitzt — es ähnelt dem Podophyllin — und vor dem Eintrocknen durch seine Ausdünstung die Einbohrversuche des Mutterkäfers abhält. Aus demselben Grunde wohl versieht dieser den Brutgang mit Luftlöchern, wenn er Zweige angefliegen hat, deren Vegetationskraft noch wenig gelitten hat. Jedenfalls hält B. den *Hylastinus fankhauseri* für denjenigen Scolytiden, der die meiste Abneigung gegen vollsaftiges Holz an den Tag legt. Die Brutfigur besteht aus einem kurzen vertikalen Eintrittsgange und ein oder mehreren (des Verf. Angaben widersprechen sich hierin) queren Muttergängen; diese sind zwischen 1 und 7 cm lang, während die bald in unregelmäßige Schlangenwindungen übergehenden, wiewohl selten gekreuzten Larvengänge 9 cm Länge erreichen. An stärkeren Aesten geht das Brutbild in die Sternform über. Die Puppenwiegen haben bisweilen Oeffnungen, die Verf. für Luftlöcher hält, weil sie sichtlich kleiner sind als der Durchmesser des Käfers. Die Art wird von B. für den häufigsten „Feind“ des Goldregens erklärt, womit die Tatsache nicht wohl vereinbar ist, daß er grundsätzlich nur die ohnehin dem Absterben geweihten Teile angreift.

Jacobi (Tharandt).

**Perrier de la Bathie**, Les campagnoles. (Rev. viticult. Ann. XII. T. XXIII. 1905. p. 44—48. p. 212—216. p. 238—240. 9 Fig.

Im Jahre 1904 haben sich die Feldmäuse (*Arvicola agrestis*) in den französischen Départements der beiden Charentes, in einigen anderen Départements und selbst in hoch gelegenen Gemeinden von Savoyen stark vermehrt. Nach den Feststellungen der Präfektur der Charente-Inférieure bezog sich in diesem letzteren Département die Invasion im August 1904 auf 200 000 ha, im September auf 221 000 ha und im Dezember auf 228 000 ha. Man schätzt den Schaden, den die Mäuse in den verschiedenen Départements verursacht haben, auf 300 Millionen.

*A. agrestis* bewohnt gern die wenig kultivierten Orte, an denen der Boden genug Konsistenz hat, damit eine Galerie angelegt werden kann. Vom Nest gehen einige Galerien aus, die wiederum in ein Netz von Hohlwegen führen. Diese Hohlwege sind sehr sichtbar, weil die Mäuse Pflanzen, Moos u. s. w. aus ihnen entfernt haben. Die Zahl der Löcher, welche aus den Hohlwegen in die Galerien führen, können 20—30 000 auf den Hektar und 15—20 auf den Quadratmeter betragen. In dem Nest, einem Loch, das die Größe eines Menschenkopfes erreichen kann, ist die Nahrung, Strohstückchen u. s. w., zusammengetragen. Unter den Gemüsearten, welche von der Zerstörung dieser Tiere zu leiden haben, sind die Knollen von Topinambur sehr gesucht. Die Reben haben ebenso von den Feldmäusen zu leiden. So hatten sie im Winter 1903—1904 an den niedrigen Aesten die Knospen abgefressen. Sie hatten ferner Reben von 4 Jahren vollständig abgenagt. Den größten Schaden richteten sie jedoch an den Trauben an, welche sie an Ort und Stelle auffressen, oder Beere für Beere in ihr Nest tragen. Ebenso haben die Obstbäume von diesen Tieren zu leiden gehabt. Aepfelbäume von 3—4 cm Durchmesser sind abgenagt worden, andere wurden ihrer Borke beraubt.

Zur Vernichtung der Mäuse wendet man in den Gärten in die Erde

gegrabene und zur Hälfte mit Wasser gefüllte Gefäße an. Der Gebrauch von schwefeliger Säure und Schwefelkohlenstoff hat keine Verbreitung gefunden. Von Giften benutzen die Landwirte gern *Nux vomica*. Auf 10 kg Getreidekörner kommen 1 kg *Nux vomica*, 10 g Weinsäure und 10 l Wasser. Man wirft in das in einem Kessel kochende Wasser die *Nux vomica* und die Weinsäure, um das Strychnin zu lösen. Dann fügt man die Hälfte der Getreidekörner hinzu. Nach halbstündigem Kochen gießt man die Mischung in ein Gefäß, in dem sich der Rest der Körner befindet. Man mischt und überläßt die Mischung 12 Stunden lang sich selbst. Die Körner werden dann ausgestreut. Die Mäuse sterben ohne in ihre Nester zurückzukehren. Die Kosten pro Hektar betragen 7 frcs. 80. Ein großer Teil der Vögel geht aber auch zu Grunde.

Der *Bacillus* von Danysz, welcher übertragbar ist, leistet gute Dienste. Die Bouillon wird im Institut Pasteur hergestellt und in Flaschen von 85—95 Centilitern verwandt. Mit dieser Bouillon wird gequetschter Hafer getränkt. Die Bouillon erhält sich in einem dunkeln und frischen Keller 5—6 Tage wirksam. Man verwendet 100 kg Hafer, 12 Flaschen Bouillon, 12 Teelöffel (100 g) Kochsalz und 36 l Wasser. Man schüttet in ein Gefäß das Wasser und das Kochsalz und fügt die Bouillon hinzu. Darauf wird der Hafer in kleinen Häufchen auf den Boden gelegt, mit der Flüssigkeit durchfeuchtet und mit einer Holzschaufel durchschaufelt. Der Kontakt von Eisen, Kupfer und Zink ist zu vermeiden. Wärme und Licht vermindert die Wirkung des *Bacillus*. Man streut daher des Abends aus. In Luzernfeldern und Wiesen verwendet man 20—30 kg pro Hektar; in Getreidefeldern 4—10 kg, in Weinbergen oder auf gepflügtem Acker 2—3 kg. An diesem Typhusbacillus sterben die Mäuse in ihren Löchern nach 5 Tagen. Im Zeitraum von 14 Tagen ist die Sterblichkeit 95—100 Proz. Diese Vernichtungsmethode ist die allein empfehlenswerte. Sie gibt gute Resultate von November bis April. Den Gemeinden wird die Bouillon postfrei zu 36 frcs. 24 Flaschen vom Institut Pasteur geliefert.

Dewitz (Geisenheim).

**Howard, C.**, Les galles latérales des tiges. (Marcellia. T. III. 1904. p. 126—146. 40 Fig.).

In dieser ziemlich langen Abhandlung, die er 1903 als These in der Sorbonne verteidigt hat, faßt der Verf. die hauptsächlichsten morphologischen und anatomischen Merkmale der seitlichen Stengelgalläpfel zusammen.

Die Entwicklung der Gallen am kriechenden Fingerkraut, die durch *Xestophanes potentillae* verursacht werden, wird in allen Einzelheiten geschildert und dient als Beispiel, um die Merkmale der Gallen hervorzuheben, deren Erreger im Mark sitzt (Gruppe I). Ebenso lassen sich aus der Stengelgalle von *Contarinia tiliarum* die hauptsächlichsten Merkmale der durch in den sekundären Bildungen sitzenden Gallenerreger erzeugten Gallen ableiten (Gruppe II). Die übrigen Gruppen seitlicher Gallen, bei denen der Parasit in der Rinde (Gruppe III) oder außen (Gruppe IV) sitzt, werden dann kurz durchgenommen, und auf Grund ihrer Unterscheidungsmerkmale den Vorhergehenden gegenüber abgegrenzt. Sehr anschauliche Schemata verdeutlichen die Lage und die Symmetrieachsen der den verschiedenen Gruppen zuzuzählenden Gallen.

Nach dieser Einteilung geht der Verf. auf die Beziehungen,

ein, die zwischen dem Parasiten und der Wirtspflanze bestehen. Die verschieden untersuchten Fälle lassen den Schluß zu, daß die Ernährung des Gallenerregers und der Gallengewebe durch die Bastchicht der Bastholzbündel des Stengels oder durch die Bastteile der kleinen Wassergefäßbündel, wenn solche entstehen, gesichert wird.

Was den Einfluß, den die Galle auf den Stengel und die Zweigbildung ausübt, anlangt, so erinnert der Verf. nur an die eigentümliche Erscheinung eines kurzen accessorischen Stengels unter dem Einfluß von *Andricus Sieboldi* am Fuße junger Eichen.

Zahlreiche Figuren bringen die Tafeln, die bei Verteidigung der These gezeigt wurden, und veranschaulichen das Gesagte.

Houard (Paris).

## Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Thiele**, Ueber die Schwierigkeit, mittels der Kjeldahl'schen Methode eine geringe Stickstoffvermehrung im Ackerboden festzustellen. (Mitteilungen der landwirtschaftl. Institute der königl. Universität Breslau. Bd. III. 1905. Heft 2.)

Verf. legte seiner Arbeit den Gedanken zu Grunde: „Sofern unsere Annahme, daß die stickstoffsammelnden Bakterien während der Zeit der Brache den Acker an Stickstoff bereichern, den Tatsachen entspricht, so müssen wir mit Hilfe der Analyse auch im stande sein, jene Zunahme festzustellen, ja es muß uns, wenn wir die Stickstoffbestimmung in kurzen Intervallen wiederholen, die Möglichkeit gegeben sein, die Veränderung in der Stickstoffbilanz des Bodens genauer festzulegen.“ Demnach wurden 1 Jahr lang alle 14 Tage Erdproben von einer bestimmten Feldparzelle entnommen und auf Stickstoff untersucht. Das Ergebnis war jedoch, daß aus den ermittelten Zahlen unmöglich eine Schlußfolgerung auf die Stickstoffbilanz des Bodens zu ziehen war. Verf. findet eine Erklärung hierfür in den von ihm eingehend behandelten Schwierigkeiten der Probenahme, und stützt dieselbe auch durch experimentelle Beweise. Er zieht aus seinen Untersuchungen den Schluß, daß wir nicht im stande sind, eine wirkliche Durchschnittsprobe von einem größeren Ackerstück zu entnehmen, daß es ferner als ausgeschlossen zu betrachten ist, daß wir mit Hilfe der heutigen analytischen Methoden eine geringe Stickstoffzunahme im Ackerboden nachweisen können, es sei denn, daß wir eine vielleicht 10-fache Anzahl von der heute üblichen Zahl von Bestimmungen vornehmen.

(Für die Frage von der Bindung des Stickstoffs durch im Acker freilebende Bakterien, bei deren Behandlung ja Stickstoffuntersuchungen des Bodens häufig verwendet sind, dürfte die vorliegende Arbeit eine recht erhebliche Bedeutung besitzen, abgesehen davon, daß sie erneut auf die Wichtigkeit der Prüfung der Arbeitsmethoden hinweist.)

Ehrenberg (Breslau).

**Klein**, Versuche mit dem Milchprüfer Patent Fliegel. (Milchwirtsch. Centralbl. 1905. Heft 7.)

Verf. hebt hervor, daß die bekanntesten Schmutzgehaltsbestimmungen von Renk, Stutzer und Gerber weit davon entfernt sind, auch nur

annähernd genau Maßzahlen für die Verunreinigung der Milch geben zu können, wie auch die Arbeiten von Weigmann und Eichloff nicht zu einem befriedigenden Verfahren geführt haben. Der sehr einfache Fliegelsche Apparat besteht nur aus einem siebartig an der Bodenfläche durchlochtem Glascylinder und ebenfalls durchlochtem Blechteller, zwischen die beim Gebrauch eine Wattescheibe gelegt wird. Die Proben ergeben ein recht deutliches Bild der Verschmutzung. Auch für die quantitative Bestimmung sind die erhaltenen Zahlen nach Verf. insoweit befriedigend, als man sie mit den anderen bekannten, aber weit komplizierten Methoden auch nicht besser erreicht. Verf. glaubt den Grund hierfür aber nicht in der Konstruktion des Apparates, sondern in Mischungsfehlern der verunreinigten Milch suchen zu sollen.

(Nach Maßgabe der angeführten Parallelbestimmungen scheint auch ein nur relatives „befriedigend“ nicht das richtige Prädikat für die mit dem Milchschnitzprüfer durchgeführten quantitativen Bestimmungen zu sein, denn die Abweichungen einzelner sind derartig groß, daß man von einer für quantitative Bestimmungen brauchbaren Methode kaum wird sprechen können. Für qualitative Ermittlungen wird der Milchprüfer dagegen wegen seiner Einfachheit sich gewiß verbreiten, was z. B. darin bereits zum Ausdruck kommt, daß nach Mitteilung des Patentinhabers bereits die Polizeiverwaltungen von Berlin und Stettin Apparate in Benutzung haben.)

Ehrenberg (Breslau).

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Kossowitsch**, Ueber das Verhalten der Bakterien zu Sinigrin. Das Sinigrin als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle. Die bakterizide Wirkung des Senföls. (Zeitschr. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich. 1905. Heft 7.)

Verf. geht zunächst auf die vorhandenen Untersuchungen über die Spaltung einiger Glykoside durch Pilze ein, und zwar besonders auf die Feststellungen des Verhaltens zahlreicher Pilze zum Sinigrin von Brunstein, dessen Folgerungen er bemängelt, um dann die Ergebnisse seiner mit einigen Pilzen und besonders mit einer ganzen Reihe von Bakterien durchgeführten Versuche mitzuteilen. Es geht daraus im Gegensatz zu Brunsteins Vermutung mit ziemlicher Sicherheit hervor, daß die Fähigkeit zur Zersetzung des Sinigrins, sofern sie im Pilzreiche überhaupt vorkommt, was erst zu erweisen wäre, jedenfalls keine allgemeine Eigenschaft der Pilze, sondern im besten Fall an besondere Organismen dieser Klasse geknüpft ist.

Weiter wird mitgeteilt, daß Senföl in bestimmten Konzentrationen nicht abtötend auf bereits entwickelte Kulturen wirkt, wodurch sich unter anderem das Auftreten lästiger Gärungen in frisch bereitetem französischen Senf erklärt.

Endlich gelangte der Versuch, bei einer Reihe von Bakterien festzustellen, ob sie Sinigrin als alleinige Kohlenstoff- oder Stickstoffquelle, oder als beides, zu verwenden in der Lage sei, zu einem vollkommen negativen Ergebnis.

Ehrenberg (Breslau).

32\*

**Hippius, Alexander**, Biologisches zur Milchpasteurisierung. (Jahrbuch f. Kinderheilk. III. F. Bd. XI. Heft 2. p. 365.)

H. kommt im Gegensatz zu den neueren von den verschiedensten Seiten gemachten Vorschlägen zur Herstellung einer guten Kindermilch (Gaulin-Juliens Verfahren, die Milch einem hohen atmosphärischen Druck auszusetzen; Seifferts Entkeimung der Milch durch ultraviolette Strahlen; sofortige Tiefkühlung) wieder auf die Pasteurisation während  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde bei 60—65° zurück. Er ist überzeugt, daß in dieser Zeit die pathogenen Bakterien in der Milch sicher abgetötet werden; die Resultate der neueren Rullmannschen Versuche (mit tuberkulösem Sputum versetzte Milch 1 Stunde lang auf 65° C erhitzt und Meerschweinchen intraperitoneal injiziert, läßt diese in einer großen Zahl von Fällen an Tuberkulose sterben) erklärt er dadurch, daß hier im Gegensatz zu den natürlichen Verhältnissen die Bacillen in eine schützende Schleimschicht eingebettet bleiben und dadurch der Vernichtung entzogen werden. Er gibt die Abbildung des mikroskopischen Präparates einer solchen Milch (Färbung nach Ziehl, dann mit Sudan und Thionin), in der man tatsächlich die Tuberkelbacillen zumeist von Schleimmassen eingehüllt sieht. (Nach persönlicher Aussprache mit Rullmann kann Referent hier einfügen, daß dieser absichtlich so große Mengen virulenter Tuberkelbacillen in schleimig-zäher Umhüllung einsäte, um zu beweisen, daß selbst unter diesen ungünstigen Verhältnissen in einer Milch von solcher Beschaffenheit nach einstündigem Erhitzen bei 68° C unter ständigem Hin- und Herbewegen die Tuberkelbacillen völlig und sicher abgetötet werden.)

Nun prüfte H. die biologischen Eigenschaften der Milch bei Erhitzung auf verschiedene Temperaturen. Er bekam ein vollwirksames Lactoserum nicht nur bei der Immunisierung seiner Versuchstiere mit roher und pasteurisierter, sondern auch mit gekochter Milch, ja sogar mit 1 Stunde lang bei 120° C im Autoklaven sterilisierter Milch. Ebenso übt ein wirksames Lactoserum seine Wirksamkeit auf die entsprechende Milch aus, gleichgültig, ob dieselbe roh, pasteurisiert, gekocht oder sterilisiert ist.

Rohe Kuhmilch übt auf *Bacterium coli* und den *Bacillus prodigiosus* eine stark bakterizide Wirkung aus, die am intensivsten während der ersten 3—4 Stunden ist, dann allmählich abnimmt, nach 6—7 Stunden ganz schwindet. Pasteurisiert man die Milch  $\frac{1}{2}$  Stunde bei 65° C, so wird ihre bakterizide Fähigkeit nicht aufgehoben, sondern nur abgeschwächt und dauert etwa 1—2 Stunden an; sie ist aber in dieser Zeit noch recht beträchtlich. Die 2 Minuten dauernde Erhitzung der Milch auf 85° C raubt ihr gleichfalls noch nicht ganz ihre baktericide Fähigkeit; dieselbe ist jedoch schwach und von ganz kurzer Dauer. In der gekochten Milch keine bakterizide Wirkung mehr.

Das oxydierende Ferment der Kuhmilch wird bei kurz-dauernder Erhitzung der Milch auf 76° C zerstört (Prüfung nach Arnold mit Tinct. lign. Guajac. und nach Storch mit 2-proz. Lösung von p-Phenylendiamin und Wasserstoffsuperoxyd). Es erhält sich ungeschwächt bei der Pasteurisierung der Milch bei 60—65° C und zeigt sogar eine besonders starke Farbenreaktion, wenn diese Pasteurisierung stundenlang fortgesetzt wird.

Das fettspaltende Ferment konstatierte H. mit einer eigenen Methode, indem er den Mankowskyschen Säureindikator zum Nachweise der durch die Milchlipase von neutralem Mandelöl abgespaltenen

Fettsäuren benutzte. Es blieb (diese Versuche sind an Frauenmilch vorgenommen) bei kurzdauernder Erwärmung der Milch bis auf 62° C unverändert wirksam, bei 63° C wurde es abgeschwächt, bei 64° C unwirksam. Es vertrug recht gut eine Pasteurisierung der Milch von 1 Stunde bei 60° C.

Die weiter vorgenommenen Versuche mit dem salolspaltenden und amylolytischen Ferment der Frauenmilch haben für die Pasteurisierungsfrage kein Interesse, da die Kuhmilch dasselbe nicht enthält.

Die Wirkung des proteolytischen Ferments der Milch wurde an Gelatine festgestellt. Es wurde hierzu die Béchampsche Fermentlösung benutzt. Das Ferment bewahrte seine digestive Wirkung sowohl in leicht alkalischem wie in schwach saurem Medium bei der Pasteurisierung der Fermentlösung von 1 Stunde bei 60° C und von 1/2 Stunde bei 65° C, ebenso, allerdings etwas abgeschwächt, bei einer kurzdauernden Erhitzung bis nahe an 100° C, verlor sie jedoch bei 100° C.

Es bleiben demnach der regelrecht pasteurisierten Kindermilch die wichtigsten biologischen Eigenschaften der Rohmilch mehr oder weniger erhalten.

Uffenheimer (München).

**Schander, R.**, Das Pasteurisieren von Most und Wein. (Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtschaft. 1904. No. 2. 1905. No. 2.)

Bei den bisher gebräuchlichen Verfahren des Pasteurisierens von Most und Wein nehmen die Flüssigkeiten leicht einen unangenehmen Geschmack an. Weine in Flaschen sterilisiert werden infolge der Mitwirkung des Alkohols schon bei 45° steril und erleiden dabei keine geschmackliche Veränderung. Durch ein neueres, von J. Wortmann in Thiels landw. Jahrbüchern. 1904. Heft 3 beschriebenes französisches Verfahren kann ebenfalls der „Kochgeschmack“ vermieden werden. Dieselben Resultate ergab das Verfahren von A. Rosenstiehl. Mit demselben steril gemachte und nachher mit Reinhefe vergorene Weine probten sich reintonig sauber, jugendlich aber etwas hart und säurereich, während dieselben Weine spontan vergoren weniger gut, ja teilweise matt, leer und säurearm schmeckten. Schander (Geisenheim).

**Hiltner, L.**, Die weitere Ausgestaltung der Organisation des Pflanzenschutzes in Bayern. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jg. III. 1905. Heft 6. p. 61–64.)

Schon im Jahre 1903 wurde darauf hingewiesen, daß die Organisation des Pflanzenschutzes, die in den letzteren Jahren besonders in der Gründung von Auskunftsstellen bestand, weiter ausgestaltet werden müsse, um dadurch ihren Zweck nach jeder Richtung erfüllen zu können. Durch Gewinnung fachkundiger Vertrauensmänner kann nunmehr der Pflanzenschutz tatsächlich im ganzen Bezirk praktisch ausgeübt und ein klares Bild über alle Krankheiten und Schädigungen an Kulturpflanzen erlangt werden. Die Vertrauensmänner stehen mit den zuständigen Auskunftsstellen in enger Verbindung und sind die betreffenden Berichte an diese einzusenden. Ein weiterer Anschluß ist im Interesse der Sache erwünscht.

Pósch (Grinád).

**v. Bassewitz**, Ueber die Bekämpfung des Kienzopfes. (Zeitschrift f. Forst- u. Jagdwesen. 1905. Heft 7.)

Verf. hebt hervor, daß der Kienzopf nicht nur im oberen Teil der Baumkrone auftritt. Im Gegenteil befällt der Pilz die Bäume auch häufig unterhalb der Krone, so ein anscheinend unerklärliches, plötzliches Trockenwerden bewirkend. Die Nadeln sind dann im Sommer zuerst vielfach noch grün, aber der Stamm durch die Einwirkung des Pilzes trocken.

Der schädigende Einfluß des Kienzopfes auf die von ihm befallenen Bäume ist ein ganz anderer als z. B. der des Baumschwammes. Er zerstört das Holz nicht, ermöglicht vielmehr noch eine ca. 70-proz. Verwertung desselben, befällt aber die Kiefer schon im ersten Stangenholzalter und bewirkt eine vorzeitige, unerwünschte Lichtung der Bestände.

Nach Verf. hat der Pilz in seiner zweiten, weit gefährlicheren Form des Auftretens unterhalb der Krone eine erheblich größere Verbreitung, als im allgemeinen angenommen wird, nur ist ein Uebersehen seiner Gegenwart sehr häufig. Die schwärzlichen Infektionsstellen des Kienzopfes sind in und unter der Krone mit Hilfe eines Glases im Laufe des Sommers, besonders bei hellem Wetter, zu erkennen, und eine möglichst baldige Entfernung der gut zu zeichnenden befallenen Stämme ist dringend geboten. — Verf. gibt dann noch Zahlen für das Auftreten des Kienzopfes im Schlower Forst. Ehrenberg (Breslau).

**Eckstein,** Zur Bekämpfung der kleinen Schädlinge der jungen Nadelholzkulturen. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen. Bd. XXXVII. 1905. Heft 6.)

Verf. knüpft an Veröffentlichungen Mehrings über „Die reblausvernichtenden Eigenschaften der Flugsandböden“ an, nach denen im Flugsand enthaltene, und nur schwer von ihm zu trennende Quarzsplinter feinsten Art eine immunisierende Wirkung des Flugsandes in Beziehung auf die Phylloxera verursachen sollen. Verf. weist nun darauf hin, daß seitdem die Erdflöhe (*Haltica*) bei verschiedenen Pflanzen mit Erfolg durch Aufstreuen feinen Sandes bekämpft worden seien, und fordert zu diesbezüglichen Versuchen mit besonders hergestelltem Quarzmehl auf. Ehrenberg (Breslau).

**Pfreimbttner, J.,** Erfahrungen über das Löfflersche Infektionsverfahren zur Bekämpfung der Mäuseplage in einer neuen Art der Anwendung. (Fühlings landwirtschaftliche Zeitung. 1904. p. 619.)

Verf. sieht den Grund für den teilweisen Mißerfolg bei Anwendung des Löfflerschen Infektionsverfahrens zur Vertilgung der Feldmäuse in der Verwendung eines festen Nährsubstrates (Agar-Agar), bei welchem die Bakterienkulturen nur auf der Oberfläche desselben wachsen, zu wenig Bakterien auf die Brotstücke gelangen und so eine zu geringe Anzahl virulenter Bakterien von den Mäusen aufgenommen werden. Eine wirksame Infektion wird bedingt nicht nur durch die Aufnahme virulenter Bacillen, sondern durch die Aufnahme einer bestimmten Zahl virulenter Bacillen. Verf. verwendete mit sehr gutem Erfolge Magermilch zur Heranzucht der Bakterien, beschreibt eine Reihe in der Praxis angestellter Versuche und gibt eine Berechnung der Unkosten des Verfahrens bei Verwendung von Milch gegenüber der von Agar-Agar. Die Vorteile der Verwendung von Milch bestehen in größerer Sicherheit des Erfolges und Verringerung der Kosten gegenüber anderer Methoden.



Die mit Magermilch getränkten Brotwürfel werden gern von den Mäusen genommen, ein Austrocknen der Kulturen, wie es bei Verwendung fester Nährböden nicht selten vorkommt, ist ausgeschlossen; trotz weitgehendster Verdünnung enthält die Flüssigkeit noch viele virulente Bacillen; ein Auswaschen derselben nach Niederschlägen ist weniger leicht möglich als bei Verwendung fester Kulturen; die Lichteinwirkung ist, da der Brotwürfel sehr viele Bacillen enthält, unbedenklich und ermöglicht die Ausführung des Verfahrens zu jeder Tageszeit; die Milchkulturen sind sofort gebrauchsfähig; die Verdünnung und Anwendung ist weniger umständlich als bei Agarkulturen. Zuletzt wendet Verf. sich gegen die Ansicht, daß der *Bacillus typhi murium* beim Menschen Krankheiten ernsterer Natur hervorrufe und deshalb seine Anwendung in der Praxis zu Bedenken Anlaß geben könne. Schander (Geisenheim).

**Teichert**, Die mechanischen, chemischen und bakteriellen Kampfmittel gegen Ratten und Mäuse. II. Teil: Die Bekämpfung der Mäuse. (Fühlings landwirtsch. Zeitung. 1905. Heft 16.)

Nachdem die verschiedenen Arten der für Deutschland in Betracht kommenden Mäuse und der von ihnen verursachte Schaden kurz besprochen sind, kommt Verf. auf Loefflers Mäusetyphusbacillus und die von Pfreimbter herrührende Züchtung desselben in steriler Magermilch zu sprechen. Eine Anzahl dann aufgeführter Versuche aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation Wreschen ergeben aufs neue die Brauchbarkeit des Mäusetyphusbacillus gegen Hausmaus und Feldmaus. Die Brandmaus dagegen wird durch ihn nicht geschädigt. Es folgen dann noch Angaben über zweckmäßiges Auslegen der infizierten Brotwürfel. (Dem umfassenden Titel entsprechend, wäre wohl auch ein Eingehen auf die Bekämpfung der Mäuse mit anderen Mitteln, so besonders mit Giften, z. B. Saccharin-Strychninhafer, zu erwarten gewesen.) Ehrenberg (Breslau).

**Teichert**, Die mechanischen, chemischen und bakteriellen Kampfmittel gegen Ratten und Mäuse. I. Die Bekämpfung der Ratten. (Fühlings landwirtsch. Zeitg. 1905. Heft 13.)

Verf. behandelt zunächst kurz die mechanischen Kampfmittel, so Fangeisen und Fallen, dann die Einbringung von teergetränkten Lappen in die Löcher, wodurch indes nur ein Auswandern zum Nachbar veranlaßt wird; weiter werden die Gifte besprochen, und besonders der kohlen saure Baryt und die Meerzwiebel hervorgehoben.

Von den bisher bekannten Versuchen, durch Bakterien den Ratten zu Leibe zu gehen, scheiterten die von Danysz, Issatschenko und Wiener daran, daß es nicht gelang, die Virulenz der gefundenen Bakterien auf die Dauer zu erhalten, wie Versuche von Räbiger dartaten.

Ein neues, von Neumann in Aalborg, Dänemark, 1904 hergestelltes Bakterienpräparat scheint einen wesentlichen Fortschritt darzustellen, zumal es für alle Haustiere, mit Ausnahme kleinerer Kälber, vollkommen unschädlich ist. Versuche am Menschen liegen noch nicht vor.

Das von Kopenhagen aus in den Handel gebrachte, auch durch eine deutsche Niederlage in Berlin zu beziehende „Ratin“ wird auf Brotwürfel geträufelt und ausgelegt. Von Räbiger-Halle angestellte Ver-

suche, die noch nicht zum Abschluß gekommen sind, scheinen günstige Erfolge für die Anwendung des Präparats gegen Ratten und Hausmäuse in Aussicht zu stellen. Ehrenberg (Breslau).

## Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

*Nachdruck verboten.*

**Bericht** über die Tätigkeit der Hefereinzuchtstation Geisenheim a. Rh. aus Wortmanns Bericht der Königlichen Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim 1904.

Der Bericht gibt ein Bild von der steigenden Inanspruchnahme der Hefereinzuchtstation von seiten der Praxis, die sich in einem immer mehr zunehmenden Versand von Reinhefe für alle Zwecke der Wein-gärung (Vergärung von Trauben-, Obst- und Beerenmosten, Umgären, Schaumweinbereitung etc.) und in zahlreichen Anfragen bei der Station um Rat und Hilfe in Betreff der Behandlung fehlerhafter und kranker Weine zu erkennen gibt. In dem wissenschaftlichen Teile erscheinen zusammenfassende Referate über zwei an anderer Stelle veröffentlichte Arbeiten Wortmanns, nämlich über Die Bestimmung des Abstichs der Weine und Ueber ein neues in Frankreich zur Anwendung gebrachtes Verfahren zum Pasteurisieren von Traubenmost, ferner eine Mitteilung Ueber ein neues Gärverfahren bei der Herstellung von Rotweinen. Endlich bringt der Bericht noch in letzter Zeit gewonnene Erfahrungen über kranke Korke und Stopfengeschmack bei Weinen und ein Rezept für die Darstellung einer ausscheidungsfreien Mostgelatine. Boetticher (Geisenheim).

## Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Arndt, Georg**, Beiträge zur Technik und Methodik der mikroskopischen Doppelsäge. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII. 1905. Heft 1. p. 104—113. 5 Fig.)
- Di Cristina**, Nuovo metodo per attaccare i tagli fatti da pezzi inclusi in celloidina. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII. 1905. Heft 1. p. 99—100.)
- Fischer, Adolf**, Eine Sperrvorrichtung für mikroskopische Demonstrationen. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII. 1905. Heft 1. p. 100—104.)
- Fürntratt, Karl**, Ueber einige Eigenschaften des Endoschen Fuchsin-Agars. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. Heft 4. 1905. p. 487—493.)

- Gaechtigens, Walter**, Ueber die Erhöhung der Leistungsfähigkeit des Endoschen Fuchsin-agars durch den Zusatz von Koffein. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 5. p. 634—640.)
- Henneberg**, Neues Mikrotom von Leitz. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII. 1905. Heft 1. p. 125—130.)
- Huber, Hans**, Weitere Versuche mit photodynamischen, sensibilisierenden Farbstoffen (Eosin, Erythrosin). Prüfung der Wirkung des Tageslichtes auf Lebensfähigkeit und Virulenz von Bakterien, auf Toxine und Antitoxine und auf das Labferment. (Arch. f. Hyg. Bd. LIV. 1905. Heft 1. p. 53—88.)
- Koraen, Gunnar**, Pathogene Bakterien, in Gegenwart von Luft und unter kontrollierbarer Luftleere kultiviert. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 5. p. 508—512.)
- Metz, Carl**, Die Leitzsche Dunkelfeldbeleuchtung bei Verwendung der homogenen Oel-immersion. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII. 1905. Heft 1. p. 114—118.)
- Rogers, L. A.**, An electrically controlled low temperature incubator. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 7/8. p. 236—240. 3 Fig.)
- v. Tappeiner, H.**, Bemerkungen zur Abhandlung von E. Mettler über die bakterizide Wirkung des Lichtes auf gefärbte Nährböden. (Arch. f. Hyg. Bd. LIV. 1905. Heft 1. p. 49—52.)
- Triepel, Hermann**, Ein Cylinder-Rotations-Mikrotom. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII. 1905. Heft 1. p. 118—125.)
- v. Winkler, Henry**, Ueber einige Hilfsmittel für bakteriologische Arbeiten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 4. p. 483—487. 1 Fig.)

## Systematik, Morphologie.

- Brown, A. A.**, Soil bacteria. 1. Introduction. (Journ. Dept. Agric. Victoria. Vol. III. 1905. p. 147—148.)
- Caullery, Maurice et Mesnil, Félix**, Recherches sur les Actinomyxidiées. 1. Sphaeractinomyxon stolci Caullery et Mesnil. (Arch. f. Protistenk. Bd. VI. 1905. Heft 3. p. 272—308. 1 Taf. u. 7 Fig.)
- De Stefani-Perez, T.**, Un nuovo cecidio del Sonchus oleraceus L. (Naturalista Siciliano. Anno XVII. 1905. N. 12. p. 272—274.)
- Faes, H.**, Un Poduride parasite de la vigne. (Chronique agric. du Canton de Vaud. Année XVIII. 1905. N. 15. p. 352.)
- Fischer, Ed.**, Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Uredineen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 7/8. p. 227—232.)
- Gräffe, E.**, Ueber zwei neue Cynips-Arten und deren Gallen. (Verh. k. k. Zool. bot. Ges. Wien. Bd. LV. 1905. p. 370.)
- Hasler, Alfred**, Kulturversuche mit Crepis- und Centaurea-Puccinien. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 9. p. 257—258.)
- Hennings, P.**, Dritter Beitrag zur Pilzflora des Gouvernements Moskau. (Hedwigia. Bd. XLV. 1905. Heft 1. p. 22—39.)
- Kostlan, Alfred**, Colletotrichum orthianum kostl. n. sp. Eine biologische Studie. (Festschr. z. 70. Geburtstage von Albert Orth. Berlin 1905. p. 113—128. 3 Taf. u. 28 Fig.)
- Krieg, Walter**, Versuche mit Ranunculaceen bewohnenden Aecidien. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 9. p. 258—259.)
- Poda, Julius**, Bacterium capsulatum misothermum. (Hyg. Rundsch. Jg. XV. 1905. N. 20. p. 1025—1028. 2 Fig.)
- Raymondaud, E.**, Polymorphie des champignons. (Rev. sc. Limousin. T. XIII. 1905. p. 55—56.)
- Schneider, Otto**, Weitere Versuche mit schweizerischen Weidenmelampsoren. (Vorl. Mitt.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 7/8. p. 232—234.)
- Schnitzler, H.**, Ueber die Fortpflanzung von Clepsidrina ovata. (Arch. f. Protistenk. Bd. VI. 1905. Heft 3. p. 309—333.)
- Smith, B. Greig**, A yellow race of Bacillus pseudarabinus, from the Quince. (Proc. of the Linnean soc. of New South Wales. Vol. XXIX. 1904. P. 4. ersch. 1905. p. 860—862.)
- de Stefani-Perez, T.**, Cecidii e substrati inediti per la Sicilia. (Naturalista Siciliano. Anno XVII. 1905. N. 7/8. p. 186—187.)

**Tusson, Joh.**, Anatomische und mykologische Untersuchungen über die Zersetzung und Konservierung des Rotbuchenholzes. Berlin (Springer) 1905. VIII, 90 p. 3 farb. Taf. u. 17 Fig. 8°. 5 M.

#### Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc).

**Bail, Oskar**, Beziehungen zwischen Aggressivität und Leibessubstanz von Bakterien. (München. med. Wehnschr. Jg. LII. 1905. N. 39. p. 1865—1868; N. 40. p. 1935—1937.)

**De Waele, H. et Vandeveld, A. J. J.**, Sur les ferments protéolytiques des microbes et un méthode d'évaluation quantitative de la liquéfaction de la gélatine. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 4. p. 353—357.)

**Didlake, Mary**, Description of a germ whose production of red pigment is limited to its cultivation upon a single medium. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 7/8. p. 193—197. 1 Taf.)

**Fischer, Otto**, Zweiter Beitrag zur Kenntnis der Lebensbedingungen von stickstoffsammelnden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 7/8. 235—236.)

**Hayduck, Fritz**, Ueber die Bedeutung des Eiweiß im Hefenleben. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 40. p. 525—528.)

**Lindner, Paul**, Die Assimilierbarkeit der Selbstverdauungsprodukte der Bierhefe durch verschiedene Heferassen und Pilze. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 40. p. 528—530. 1 Taf.)

**Mathieu, L.**, Température d'activité de la levure. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 71. p. 282.)

**Mereshkowsky, S. S.**, Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal. Acidophile Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 4. p. 380—389. 1 Taf.)

**Mohr, O.**, Zur Kenntnis der Antipepsine. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 38. p. 501.)

**Neumann, P.**, Wann befindet sich eine Maische in abnehmender Gärung? (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVIII. 1905. N. 40. p. 378.)

**Bossi, Giacomo und Sante de Grazia**, Histologische und chemische Untersuchungen über die Zersetzung der Pflanzen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 7/8. p. 212—215. 1 Taf.)

**Vogel, J.**, Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes durch Mikroorganismen. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 7/8. p. 215—227.)

**Wicken, Percy G.**, Nitrogenous bacteria for leguminous crops. (Journ. of agricult. Western Australia. Vol. XI. 1905. P. 6. p. 389—391.)

#### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

##### Luft, Wasser, Boden.

**Huntemüller, Otto**, Vernichtung der Bakterien im Wasser durch Protozoen. Diss. med. München 1905. 8°.

—, Vernichtung der Bakterien im Wasser durch Protozoen. (Arch. f. Hyg. Bd. LIV. 1905. Heft 2. p. 89—100. 1 Taf.)

**Koschmieder, Hermann**, Zum Thema „Bakteriologie und Wasserversorgung“. (Gesundheit. Jg. XXX. 1905. N. 19. p. 588—590.)

**Nesfield, N. B.**, A simple chemical process of sterilizing water for drinking purposes for use in the field and at home. (Journ. of preventive med. Vol. XIII. 1905. N. 10. p. 623—632.)

**von Niessen**, Ueber mechanische Luftreinigung geschlossener Räume. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 4. p. 493—496. 2 Fig.)

**Pillaud, H.**, Filtration et stérilisation des eaux. (Journ. d'agric. prat. Année LXIX. 1905. N. 38. p. 373—375. 1 Fig.)

**Tiraboschi, Carlo**, I filtri di porcellana d'amianto e la filtrazione delle acque potabili. (Ann. d'igiene sperim. Vol. XV. [Nuova Serie.] Fasc. 4. 1905. p. 623—692.)

**Watkins-Pitchford, H.**, The action of cupric-sulphate upon the bacterial life contained in water. (Natal agricult. Journ. Vol. VIII. 1905. N. 8. p. 775—782.)

##### Nahrungsmittel.

**Belser, Joseph**, Studien über verdorbene Gemüsekonserve. (Arch. f. Hyg. Bd. LIV. 1905. Heft 2. p. 107—148.)

**Houston, A. C.**, Infektion von Schaltieren und dem Wasser des Themse-Aestuarius. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. 1905. N. 4/6. p. 124—141.)

- Loir, Adrien**, La conservation du maïs et du riz. (Compt. rend. Assoc. franc. pour l'avanc. des sc. Grenoble 1904. Notes et Mémoires. Paris 1905. p. 1342—1353.)
- Maione, P.**, Ricerca dell' allume nel pane. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVII. 1905. N. 8. p. 382—384.)

## Fleisch.

- Eichholz**, Ist Borsäure ein zulässiges Konservierungsmittel für Fleisch- und Wurstwaren? (Konserven-Ztg. Jg. 1905. N. 39. p. 447.)
- Farnsteiner, K.**, Abänderungsvorschlag zu den „Vereinbarungen“, betreffend die Bestimmung der Salpetersäure in Fleisch und Fleischwaren. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. X. 1905. Heft 6. p. 329—330.)
- Heine**, Technische Neuerungen für die Trichinenschau. (Rundsch. a. d. Geb. d. ges. Fleischbeschau u. Trichinenschau. Jg. VI. 1905. N. 19. p. 352—353.)
- Müller, Kunibert**, Därme und Gekröse. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1905. Heft 1. p. 4—5.)
- Nash, J. T. C.**, Shellfish and typhoid fever. (British med. Journ. 1905. N. 23, 33. p. 641—643.)
- Ostertag**, Zur Beurteilung von Därmen, die mit parasitären Knötchen behaftet sind, im Inlandsverkehr. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1905. Heft 1. p. 1—4.)
- , Zur Ausführung des Reichsfleischbeschaugesetzes. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1905. Heft 1. p. 5—8.)
- Stadie**, Verschiedenes aus der Praxis der Fleischbeschau. Zwei interessante Befunde. (Aktinomykose und Fibroneurom beim Rind.) (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1905. Heft 1. p. 20—22. 2 Fig.)
- Stüber, W.**, Zur quantitativen Salpeterbestimmung im Fleisch. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. X. 1905. Heft 6. p. 330—335.)

## Milch, Molkerei.

- Baldoni, Alfredo**, Le variazioni spontanee del peso specifico del latte. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVII. 1905. N. 7. p. 293; N. 8. p. 341—352.)
- Bereitung des Géromé-Käses. (Molkerei-Ztg. Jg. XV. 1905. N. 37. p. 433—434.)
- Broers, C. W.**, Onderzoekingen over den tijd, gedurende welken tuberkelbazillen hunne virulantie in melk, karnemelk en boter. (Nieuwe Verhandel van het Bataafsche Genootschap der proefondervindel. Wijsbegeerte te Rotterdam. Reeks II. Deel 6. 1905.)
- Dorange, M.**, Le mouillage du lait et la cryoscopie; réglementation de la vente du lait. Thèse de Lyon 1905. 8°.
- von Freudenreich, Ed.**, Ueber die Pasteurisierung der Milch. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XV. 1905. N. 36. p. 421—422.)
- , Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft. Kurzer Grundriß zum Gebrauche für Molkereischulen, Käser und Landwirte. 3. verm. u. verb. Aufl. Jena (Fischer) 1905. 106 p. 1 Taf. u. 4 Fig. 1,80 M.
- de Freudenreich, Ed.**, Sur la pasteurisation du lait dans l'alimentation de l'enfance. (Rev.-gén. du lait. 15. juillet 1905. p. 433—437.)
- , Bemerkungen zu der Arbeit von A. Peter: „Technisch-bakteriologische Versuche in der Emmentalerkäseerei“. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Jg. XIX. 1905. Heft 5. p. 294—295.)
- Graham, W.**, Cheddar cheese-making: Canadian system. (Agric. Gaz. New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 8. p. 730—735.)
- Lindet et Ammann**, La maturation des fromages de Camembert. (Rev. internat. des falsifications. Année XVIII. 1905. Livr. 3. p. 83.)
- Lister, T. D.**, Municipal milk-depots. (Journ. of preventive med. Vol. XIII. 1905. N. 10. p. 613—619.)
- Lukin, Matislav**, Experimentelle Untersuchungen über Sterilisierung der Milch mit Wasserstoffsperoxyd, unter spezieller Berücksichtigung des von Budde angegebenen Verfahrens. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 4/6. p. 165—174.)
- Mazé, P.**, Les microbes dans l'industrie fromagère. 3ème partie. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 8. p. 481—493.)
- Millet, E.**, Le fromage de Gex. (Journ. d'agric. prat. Année LXIX. 1905. N. 37. p. 345—346.)
- Reitz, Adolf**, Eine milchwirtschaftliche Studienreise nach Nordschleswig, Dänemark und Schweden. [Vorl. Reiseber.] (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1905. Heft 1. p. 14—20. 2 Fig.)
- Robertson, W. G. Aitchinson**, Considerations relating to milk supply. (Scottish med. and surg. Journ. 1905. p. 105.)
- Rodella, A.**, Einiges über die Bedeutung der direkten mikroskopischen Präparate für das Studium des Käseerfungsprozesses. 7. Mitt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 4/6. p. 143—153. 1 Taf.)

- Sarthon, Jean**, 1. Sur la catalase du lait. — 2. Sur une cause d'erreur dans la recherche de la catalase des laits. — 3. Sur la localisation de la catalase du lait de vache. (Bull. soc. de pharmac. de Bordeaux. Mai 1905. p. 147—154.)
- Struelens**, Quelques considérations sur le lait et ses dérivés (babeurre et petit lait) au point de vue chimique, physiologique et clinique. (Presse méd. Belge. Année LVII. 1905. N. 35. p. 822—824.)
- Tachard, E.**, Le lait homicide. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. des sc. Grenoble 1904. Notes et Mémoires. Paris 1905. p. 1488—1494.)
- Trillat, A. et Sauton**, L'ammoniaque dans le lait. Recherche et interprétation de sa présence. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 8. p. 492—502.)

## Wein, Weinbereitung.

- Delle, Ed.**, Le sulfitage des mouts et des vins. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 75. p. 297—298.)
- Desmoulin, A. M.**, Incidents et fermentation. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 74. p. 294.)
- , Influence des couleurs sur les fermentations. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 70. p. 278.)
- Thomas, G.**, La durée du cuvage. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 69. p. 274.)
- , Le décuvage. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 70. p. 278.)
- , Le chauffage des mouts. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 72. p. 286.)

## Bier, Bierbrauerei.

- Braselmann**, Mitteilungen über Pasteurisieren von Bier unter Anwendung von Gegendruck. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 35. p. 474—475.)
- Fischer, George**, Natural pure yeast propagation in brewing. Brewer and Maltster. New York 1905. N. 6. p. 245; Ref. v. Wichmann in: Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikat. Jg. XXXIII. 1905. N. 38. p. 424—425.)
- Mitteilungen der Oesterreichischen Versuchsstation und Akademie für Brauindustrie in Wien. Wien. Selbstverlag d. Oesterr. Versuchsstat. August 1905: **Hirsch, Julius**, Der Einfluß von Formaldehyd auf Vermehrungsenergie und Gärungsenergie, sowie auf die Generationsdauer verschiedener Hefearten. 15 p.; **Prior, E.**, Der Auflösungsgrad der Gerste und seine Beziehungen zum Stickstoffgehalte derselben; **Wichmann, H. und Zikes, H.**, Ein neues Verfahren zur Reinzüchtung der Hefe; **Wichmann, Heinrich**, Japanisches Bier. 7 p.; September 1905: **Prior, E.**, Die Beziehungen des Stickstoffgehaltes und Auflösungsgrades der österreichischen Gerste zu der Extraktausbeute und dem Möglichkeitsgrad der daraus hergestellten Malze. 6 p.
- Windisch**, Ueber die Bier-Pasteurisierung in Transportfässern nach dem Verfahren Gronwald-Thiel. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 35. p. 475—476.)

## Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

- Almquist, E. und Troili-Petersson, Gerda**, Quantitative Desinfektionsversuche. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 4. p. 477—482.)
- Auerbach, Friedrich**, Studien über Formaldehyd. 1. Mitt. Formaldehyd in wässriger Lösung. Berlin (Springer) 1905. III, 46 p. 8°. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamt 1905.) 7 Fig. 2 M.
- Bode, G.**, Desinfektionswirkung und Desinfektionsmittel. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 40. p. 553—555.)
- Kinnicutt, Leonard, P.**, The intermittent filtration of sewage as practised in America. (Journ. of preventive med. Vol. XIII. 1905. N. 10. p. 633—642.)
- Ori, Alessandro**, Ricerche sul valore dell' etere etilico. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XVI. 1905. N. 19. p. 672—683.)
- Pfeiler, Willy**, Zur Kenntnis der Desinfektion infizierten Düngers durch Packung. Diss. med.-vet. Gießen, 1905. 8°.
- Schnürer, Joseph und Januschke, Julius**, Zur Desinfektion der Eisenbahn-Viehtransportwagen mit wässrigen Formaldehydlösungen. (Ztschr. f. Tiermed. Bd. IX. 1905. Heft 5/6. p. 376—405.)
- Schumacher**, Die Desinfektion von Krankenhausgruben, mit besonderer Berücksichtigung des Chlorkalkes und ihre Kontrolle. [Schluß.] (Gesundheits-Ingenieur. Jg. XXVIII. 1905. N. 24. p. 393—397.)

- Thumm, K.**, Augenblicklicher Stand der Abwasserreinigung nach dem sogenannten biologischen Verfahren. [Schluß.] (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XV. 1905. Heft 12. p. 359—364.)
- Willem, V. et Miele, A.**, Essais de traite aseptique. (Rev. gén. du lait. 30 juin 1905. p. 409—419.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

#### Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Aderhold, Rud.**, Der amerikanische Mehltau des Stachelbeerstrauches, eine für Deutschland neue Pflanzenkrankheit. (Kais. Biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtschaft. Flugbl. N. 35. 1905. 4 p. 4 Fig.)
- Allen, W. J.**, The Apple (insect and fungus diseases of the apple most common in this state). (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 8. p. 791—797.)
- Amrein, Chrys.**, Die Pilzkrankheit der Weinreben. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXIII. 1905. Heft 38. p. 941—943.)
- Apple and pear scab (*Fusicladium denariticum* and *F. pirinum*). (Board of agricult. and fisheries. Leaflet N. 131. 1905. 2 p. 3 Fig.)
- Arthur, J. C.**, Revised list of Indiana rusts. (Proc. of the Indiana Acad. of sc. Indianapolis 1904.)
- Blin, H.**, Le black rot et la pourriture grise dans l'Indre. (Rev. de viticulture. Année XII. 1905. T. XXIV. N. 611. p. 241—242.)
- Brizzi, Ugo**, Intorno alla malattia del riso detta Brusone. (Atti d. R. Accad. dei Lincei. Anno CCCII. 1905. Ser. 5. Rendiconti. Cl. di sc. fis., mat. e nat. Vol. XIV. Fasc. 10. p. 576—582.)
- Carpenter, G. H.**, Injurious insects and other animals observed in Ireland during the year 1904. Econ. Proc. R. Soc. Dublin. 1905. 25 p. 3 Taf. u. Fig. 1,20 M.
- Collinge, W. B.**, Life-history of the pear midge, *Diplosis pyrivora* Riley. Birmingham 1905. 7 p. 8°. 2 Fig. —,60 M.
- Compere, George**, Fruit fly parasites. (Journ. of agricult. Western Australia. Vol. XII. 1905. P. 1. p. 6—7.)
- Corboz, F.**, Les insectes nuisibles aux plantes utiles. (Chronique agric. du Canton de Vaud. Année XVIII. 1905. N. 13. p. 307—310; N. 11. p. 265—269; N. 12. p. 290—293.)
- Danguy, Louis**, La petite chrysomèle bleue de l'osier. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. des sc. Grenoble 1904. Notes et Mémoires. Paris 1905. p. 1335—1339.)
- Die Reblaus in Franken. (Dtsche Wein-Ztg. Jg. XLII. 1905. N. 72. p. 771.)
- Driberg, C.**, A note on the rice diseases America. (Tropical Agriculturist. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 1. p. 185—188.)
- Faes, H.**, Acariôse, dit court-noué; brunissure et erinose. (Chronique agric. du Canton de Vaud. Année XVIII. 1905. N. 15. p. 347—349; N. 16. p. 379—396. 1 Taf. u. 6 Fig.)
- , Encore l'acariôse et la brunissure de la vigne. (Chronique agric. du Canton de Vaud. Année XVIII. 1905. N. 16. p. 396—400.)
- Froggatt, Walter W.**, Economic entomology. White ants (Termitidae), with suggestions for dealing with them in houses and orchards. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 7. p. 632—656; P. 8. p. 753—774. 4 Taf. u. Fig.)
- , Stick or leaf insects. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 6. p. 516—520. 1 Taf. u. 3 Fig.)
- Green, E. Ernest**, Entomological notes. (Tropical Agriculturist. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 1. p. 182—183.)
- , Insect pests on tea estates. (Tropical Agriculturist. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 1. p. 194—198. 3 Fig.)
- Guénaux, G.**, Entomologie et parasitologie agricoles. 390 Fig. Paris 1905. XII, 588 p. 8°. 4,50 M.
- H.**, Mitteilung der K. Agrikulturbot. Anstalt. Ueber die Getreideroste, unter besonderer Berücksichtigung ihres Auftretens im Jahre 1904. [Schluß.] (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 7. p. 79—82.)
- Hiltner, L.**, Einige Beobachtungen über das Auftreten von Krankheiten und Schädlingen in Bayern im Sommer 1905. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 9. p. 97—100. 2 Fig.)
- Insect pests act. (Journ. of Agricult. Western Australia. Vol. XII. 1905. P. 1. p. 59.)
- K. Bayer.** Agrikulturbot. Anstalt München. (Flugblatt N. 4. Anleitung zur Verwendung der Löfflerschen Mäusetypusbacillen. Stuttgart (Ulmer) 1905. 6 p. 1 Fig.)
- Kroemer**, Kleine Feinde unserer Obst- und Gemüseprodukte. (Amtsblatt d. Landwirtschaftskammer f. d. Regierungsbez. Wiesbaden. Jg. LXXXVII. N. 36; N. 37. p. 274—275; N. 38. p. 279—280. 11 Fig.)

- Kulisch, Paul**, Ueber das diesjährige Auftreten der *Peronospora* am Rebstocke, besonders auf Trauben. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 9. p. 390—395.)
- , Was lehrt uns das diesjährige Auftreten der *Peronospora*, besonders auf den Trauben, für die zukünftige Bekämpfung der Krankheit? (Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 40. p. 472—473; N. 41. [Forts.] p. 486—487.)
- Laubert, B.**, Die Kropfkrankheit (*Plasmodiophora*) des Kohls und ihre Bekämpfung. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau und -schutz. Jg. III. 1905. Heft 7. p. 73—78. 3 Fig.)
- Lounsbury, Chas. P.**, *Fusicladium* of the apple and pear. Black spot, scab, cracking, or scurf. (Agricult. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXVII. 1905. N. 2. p. 169—174.)
- , Natural enemies of the fruit fly. (Agricult. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXVII. 1905. N. 3. p. 309—319.)
- Mally, C. W.**, The mealie-stalk borer. (Agricult. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXVII. 1905. N. 2. p. 159—168. 1 Taf.)
- Musson, T.**, Potato diseases. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 6. p. 591—592.)
- Niezabitowski**, Zooecidia. (Sprawozdanie Akad. w. Krakowie. T. XXXVIII. 1905.)
- Organisation des Pflanzenschutzdienstes im Königreich Sachsen. (Sächs. landwirtsch. Ztschr. 1905. N. 26. p. 594—599.)
- v. Oven, Ernst**, Ueber eine Fusariumerkrankung der Tomaten. (Landw. Jahrb. Bd. XXXIV. 1905. Heft 3/4. p. 489—520. 2 Taf. u. 1 Fig.)
- Parisot, F.**, Maladie des topinambours. (Journ. d'agric. prat. Année LXIX. 1905. N. 38. p. 369—371.)
- Petch, T.**, Mycological notes. (Tropical Agriculturist. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 1. p. 183—184.)
- Pflanzenschutz in England. Welche Maßnahmen werden in England zur Bekämpfung der Krankheiten und Beschädigungen der Kulturpflanzen empfohlen? (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 8. p. 85—89; Heft 9. p. 101—102.)
- Schellenberg, H. C.**, Ein wenig bekannter Traubenschädling. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXIII. 1905. Heft 36. p. 901—903.)
- Schiff-Giorgini, Ruggero**, Untersuchungen über die Tuberkelkrankheit des Oelbaumes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 7/8. p. 200—211.)
- , Ricerche sulla tubercolosi dell' ulivo. (Atti d. R. Accad. dei Lincei. Mem. cl. sc. fis. Anno CCCII. Ser. 5. Vol. V. 1905. Fasc. 6. p. 185—210. 2 Taf. [Bacillus oleae].)
- Schmidt, H.**, Die Milbenspinne an Stachelbeeren. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 8. p. 343—344.)
- Summary of experimental work in bacteriology done by the Wisconsin Agricultural Experiment Station for the year 1893—1903. Madison, Rep. Agr. Exp. St. 1905. 86 p. 11 Fig. 8°.
- Schneider-Singeisen**, Der Getreidebrand. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXIII. 1905. Heft 36. p. 899—900.)
- Smith, Erwin F.**, Some observations on the biology of the olive-tubercle organism. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 7/8. p. 198—200.)
- v. Tubeuf, Karl**, Hexenbesen von *Prunus padus*. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 9. p. 395—397. 2 Fig.)
- V.**, Die Kropfkrankheit der Kohlarten. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXIII. 1905. Heft 36. p. 891—893. 1 Fig.)
- Wahl, Bruno**, 1. Die Pockenkrankheit der Birnblätter und ihr Erreger (*Eriophyes piri* Pagenstecher); 2. Birngallmücke und Birntrauermücke. (Mitt. d. k. k. Pflanzenschutzstation in Wien 1905. Flugblatt 6.)
- , Die Blutlaus und ihre Bekämpfung. (Mitt. d. k. k. Pflanzenschutzstation in Wien. 1905. Flugblatt 7. 3 Fig.)
- Winkler, F.**, Der Stachelbeermehltau. (Land- u. forstw. Ztg. Jg. XX. 1905. N. 35. p. 204.)
- Winkler, Hubert**, Einige tierische Schädlinge an Kakaofrüchten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 3. p. 129—137.)
- Wurth, Th.**, Rubiaceen bewohnende Puccinien vom Typus der *Pucc. galii*. Diss. phil. Jena, 1905. 27 p. 14 Fig.
- v. Zelles, Aladár**, *Monilla fructigena* and *Gloeosporium ribes*. (Oesterr. landw. Wehnl. Jg. XXXI. 1905. N. 37. p. 296.)
- Zur Reblausseuche in Lothringen. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXIII. 1905. N. 32. p. 298—299.)



### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

- Clausen**, Seltene Maßnahmen zur Bekämpfung des Senfs und Hedrichs. (Ill. landw. Ztg. Jg. XXV. 1905. N. 71. p. 629—630.)  
 Der Reblausschutzdienst in Tirol. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXII. 1905. N. 34. p. 336; N. 36. p. 356—357.)  
 Die Reblausbekämpfung im Elsaß und in Franken. (Dtsche Wein-Ztg. Jg. XLII. 1905. N. 73. p. 783—784.)  
**Froggatt, Walter, W.**, Spraying the codling moth in South Australia. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 8. p. 739.)  
**Klitsing, H.**, Ursache und Bekämpfung einer neuen Blattfleckenkrankheit. auf *Vanda coerulea*. (Gartenflora. Jg. LIV. 1905. Heft 16. p. 432—435.)  
**Knofl, Adolf**, Grauschwefel gegen Rebenschädlinge. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXII. 1905. N. 36. p. 357—358.)  
**Kolle, Wilhelm**, Ueber Maßnahmen und Verfahren zur Bekämpfung der Ratten- und Mäuseplage. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. IX. 1905. Heft 7. p. 289—297.)  
**Kulisch, Paul**, Was lehrt uns das diesjährige Auftreten der *Peronospora*, besonders auf den Trauben für die zukünftige Bekämpfung der Krankheit. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXIII. 1905. N. 37. p. 352—356.)  
**Moritz, J.**, Was kann und soll der deutsche Winzer zur Bekämpfung der Reblauskrankheit tun? (Flugblatt N. 34. 1905. d. kais. Biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtschaft. 4 Fig.)  
**Osterwalder**, Zum Kampfe gegen die Pflanzenkrankheiten. (Obstgarten. 1905. N. 8. p. 116—118. [Schweizer. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau.].)  
**Seifert, W. und Reisch, R.**, Ueber die Zusammensetzung einiger Mittel zur Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten. (Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 33. p. 387—390.)  
**Teichert, Karl**, Die mechanischen, chemischen und bakteriellen Kampfmittel gegen Ratten und Mäuse. II. Teil. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 8. p. 552—555.)

### Inhalt.

#### Zusammenfassende Uebersichten.

- Dewitz, J.**, Die Bekämpfung der ampelophagen Mikrolepidopteren in Frankreich, p. 449.

#### Referate.

- Barbey, A.**, Biologische Beobachtungen an *Hylastinus fankhauseri* Reitter, dem Borkenkäfer des Goldregens, p. 495.  
**Beauverie, J.**, Le bois, p. 480.  
**Beijerinck, M. W.**, Een obligaat anaërobe gistings-sarcine, p. 473.  
**Bokorny, Th.**, Ueber das Aufsammlungsvermögen der Hefe für Farbstoffe und gewisse Schwermetallsalze, p. 471.  
**Brandauer, M.**, Versuche über das proteolytische Enzym im bayerischen Darmmalze, p. 472.  
**Briem**, Wurzelbrandentdeckung und kein Ende, p. 487.  
**Degrully, P.**, Les invasions d'ampelophages, p. 493.  
**Effront, I.**, Sur l'autophagie de la levure, p. 469.  
**Enderlein, G.**, Läusestudien. III. Zur Morphologie des Läusekopfes, p. 495.  
**Geschwind, L.**, Le goitre de la Betterave. (Wurzelkropf der Zuckerrübe), p. 486.  
**Giard, A., L.**, „Ino ampelophaga“, ravageur des feuilles de la vigne en Palestine, p. 493.  
**Grafe, Wilhelm**, Studien über Atmung und tote Oxydation, p. 469.

- Houard, C.**, Les galles latérales des tiges p. 497.

- Jumelle, H.**, De l'influence des endophytes sur la tubérisation des *Solanum*, p. 490.

- Kgl. Agrikulturbotanische Anstalt in München**, Ueber die Getreideroste, unter besonderer Berücksichtigung ihres Auftretens im Jahre 1904, p. 483.

- Kleuker**, Ueber Wurzelbrand an Zuckerrüben, p. 487.

- Köck**, Ein für Oesterreich neuer Rosenschädling, p. 489.

- Koning**, Biologische und biochemische Studien über Milch. Dritter Teil: Der Säuregrad der Milch, p. 475.

- Krasser, Fridolin**, Ueber eine eigentümliche Erkrankung der Weinstöcke, p. 492.

- Kricheldorf**, Ueber Rübenmüdigkeit, p. 486.

- Kukla, Anton**, Kurze oder lange Tennenführung im Lichte der stickstoffhaltigen Substanzen des Malzes und des Bieres, p. 472.

- Lutz, L.**, Les microorganismes fixateurs d'azote. [Morphologie et biologie.], p. 477.

- Maire, R.**, Sur les mitoses hétérotypiques et la signification des protochromosomes chez les Basidiomycètes, p. 467.

- Majunke**, Ueber die Verarbeitung von Obst auf Branntwein, p. 477.

- Marchal, P.**, Observation biologique sur un parasite de la Galéruche de l'Orme, le *Tetrastichus xanthomelaenae* (Rond.). —, Identification du parasite des oeufs de la Galéruche de l'Orme, *Tetrastichus xanthomelaenae* (Rond.), p. 490.
- Noak**, *Helminthosporium gramineum* Rabenh. und *Pleospora trichostoma* Wint., p. 484.
- Ogawa, M.**, Bakteriologische Untersuchung getrübbten Bieres, p. 473.
- Olivier, E.**, Faune de l'Allier: Ordre des Hémiptères, Homoptères, Aphides, p. 490.
- v. Oven**, Ueber eine Fusariumerkrankung der Tomaten, p. 491.
- Perrier de la Bathie**, Les campagnoles, p. 496.
- Ravas, L. et Vidal, D.**, Cause du déperissement des vignes plantées dans les sables en Algérie, p. 493.
- Reiche, C.**, Bau und Leben der chilenischen Lorantheen *Phrygilanthus aphyllus*, p. 494.
- Rippert**, Neuere über Pflanzenkrankheiten. I., p. 479.  
—, Neuere über Pflanzenkrankheiten. II., p. 480.
- Röttgen, Th.**, Von den flüchtigen Säuren im Weine und einer einfachen Methode zur Bestimmung derselben, p. 474.
- Rotenbach, F. und Eberlein, L.**, Zu der Enzymgärung der Essigpilze, p. 475.
- Schander, R.**, Ueber fehlerhafte Gärung bei Beerenweinen, p. 474.
- Schindler**, Einiges über kranke Jungweine und deren Behandlung, p. 474.
- Tscherniajew, E.**, Ueber den Einfluß der Temperatur auf die normale und die intramolekulare Atmung der verletzten Pflanzen, p. 468.
- Tusson, J.**, Anatomische und mykologische Untersuchungen über die Zersetzung und Konservierung des Rotbuchenholzes, p. 482.
- Uzel, H.**, Ueber den auf der Zuckerrübe parasitisch lebenden Pilz *Cercospora beticola* Sacc., p. 487.
- Vibrans**, Nutzbarmachung des Luftstickstoffs, p. 478.
- Wehmer, C.**, Ueber das Verhalten der Mucor-Arten gegen verdünnten Alkohol, p. 471.
- Wichmann, Heinrich**, Japanisches Bier, p. 472.

- Winkler**, Einige tierische Schädlinge an Kakaofrüchten, p. 492.
- Zimmermann, Hugo**, Eine neue Tarsonemusart auf Gartenerdbeeren, p. 488.

#### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Klein**, Versuche mit dem Milchprüfer Patent Fliegel, p. 498.
- Thiele**, Ueber die Schwierigkeit, mittels der Kjeldahlschen Methode eine geringe Stickstoffvermehrung im Ackerboden festzustellen, p. 498.

#### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- v. Bassewitz**, Ueber die Bekämpfung des Kienzopfes, p. 501.
- Eckstein**, Zur Bekämpfung der kleinen Schädlinge der jungen Nadelholzkulturen, p. 502.
- Hiltner, L.**, Die weitere Ausgestaltung der Organisation des Pflanzenschutzes in Bayern, p. 501.
- Hippius, Alexander**, Biologisches zur Milchpasteurisierung, p. 500.
- Kossowitsch**, Ueber das Verhalten der Bakterien zu Sinigrin. Das Sinigrin als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle. Die bakterizide Wirkung des Senföls, p. 499.
- Pfreimbttner, J.**, Erfahrungen über das Löfflersche Infektionsverfahren zur Bekämpfung der Mäuseplage in einer neuen Art der Anwendung, p. 502.
- Schander, R.**, Das Pasteurisieren von Most und Wein, p. 501.
- Teichert**, Die mechanischen, chemischen und bakteriellen Kampfmittel gegen Ratten und Mäuse. I. Die Bekämpfung der Ratten, p. 503.  
—, Die mechanischen, chemischen und bakteriellen Kampfmittel gegen Ratten und Mäuse. II. Teil: Die Bekämpfung der Mäuse, p. 503.

#### Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

- Bericht** über die Tätigkeit der Hefereinzuchtstation Geisenheim a. Rh. aus Wortmanns Bericht der Königlichen Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim 1904, p. 504.

Neue Litteratur, p. 504.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Bakterien, welche Methan als Kohlenstoffnahrung und Energiequelle gebrauchen.

Von N. L. Söhngen.

Mit 3 Figuren.

Durch eine Veröffentlichung von Dr. Kaserer<sup>1)</sup> über die Oxydation von Wasserstoff und Methan durch Mikroben sehe ich mich veranlaßt, bereits jetzt eine vorläufige Mitteilung über eine Reihe von Versuchen zu geben, die von mir in dem mikrobiologischen Laboratorium zu Delft über den Verbrauch des letztgenannten Gases durch Bakterien angestellt sind.

Der obengenannte Forscher meldet wenig mehr als die Tatsache der Möglichkeit der Methanabsorption durch Mikroben, während durch mich der Prozeß bereits quantitativ untersucht war und die Bakterien, die dazu Veranlassung geben, schon in Reinkultur gebracht waren, bevor seine Mitteilung mich erreichte.

Das Methan, welches stets in großer Menge durch das Mikrobenleben hervorgebracht wird, und seitdem das Pflanzenleben auf unserem Planeten möglich wurde, in unendlichen Mengen gebildet sein muß, kommt doch nur in Spuren in unserer Atmosphäre vor. Gegen chemische Einflüsse ist dieses Gas so beständig, daß ein Verschwinden auf diesem Wege sehr unwahrscheinlich ist. Da nun bei der Oxydation von Methan zu Kohlensäure und Wasser eine beträchtliche Menge Energie frei wird, so lag es auf der Hand, zu untersuchen, ob sich Organismen diesem Energiebrunnen angepaßt hätten.

An erster Stelle wurden darum Pflanzen auf die Fähigkeit hin untersucht, dieses Gas zum Verschwinden zu bringen. Da die Methanbildung als anaërober Prozeß besonders in stillstehenden Wassern vor sich geht, glaubte ich, mit Wasserpflanzen die meiste Aussicht auf Erfolg zu haben.

Die Pflanzen wurden dazu in umgekehrte, mit Wasser gefüllte Kolben gebracht, welche mit dem Halse in Bechergläser reichten und danach mit gleichen Volumen Methan und Sauerstoff beschickt wurden.

In der Tat erzielte ich eine bedeutende Absorption, und zwar mit mehreren Arten, so mit *Callitriche stagnalis*, *Potamogeton*, *Elodea canadensis*, *Batrachium*, *Hottonia palustris*, *Spirogyra*. So gab z. B. einer der Versuche mit *Hottonia palustris* das Resultat, daß diese Pflanze vom 7.—21. Mai 1905, also in 14 Tagen, 500 ccm Methan zum Verschwinden brachte. Gleichwohl war der Zeitraum, bevor die Methanabsorption sichtbar wurde, bei mehreren Versuchen mit einer und derselben Pflanzenart sehr verschieden, war aber der Prozeß einmal eingetreten, so verlief er stets mit großer Schnelligkeit. Als es sich jedoch zeigte, daß durch sorgfältiges Abwaschen der Pflanze das Eintreten des Prozesses sehr verlangsamt wurde, während man doch dadurch eine Beschleunigung erwarten sollte, und eine Absorption erst stattfand, wenn eine

1) Zeitschr. f. landw. Vers.-Wes. Oest. p. 789—794. 24. August.

schleimige Haut die Flüssigkeit bedeckte, so wurde es mir klar, daß die Oxydation nicht durch die grüne Pflanze verursacht wurde, sondern durch Mikroben, die mit dem Pflanzenmaterial zugeführt waren.

Um nun diesen Prozeß näher studieren zu können, konstruierte ich einen Apparat, der mich in den Stand setzte, die Absorption sowohl qualitativ als auch quantitativ zu verfolgen.

Dieser Apparat besteht aus zwei Erlenmeyer-Kolben von  $\pm 300$  ccm Inhalt, beide versehen mit einem doppelt durchbohrten Gummistöpsel und verbunden durch ein zweimal umgebogenes Rohr, das in beiden Kolben bis auf den Boden reicht und in deren Mitte sich ein Glashahn befindet. Der erste Kolben, in dem die Kultur vor sich geht, ist außerdem mit einem Rohr mit Glashahn versehen, welches zum Zulassen der Gasmischung dient; der zweite Kolben trägt ein kleines Rohr mit Wattepfropfen. Um jede mögliche Diffusion durch die Gummistöpsel auszuschließen, habe ich den Apparat ganz von Glas anfertigen lassen und hiermit meine quantitativen Versuche vorgenommen.

In der Abbildung ist: *A* Kulturkolben, *B* Gaszulaßhahn, *C* Mittelhahn, *D* Ueberdruckkolben.

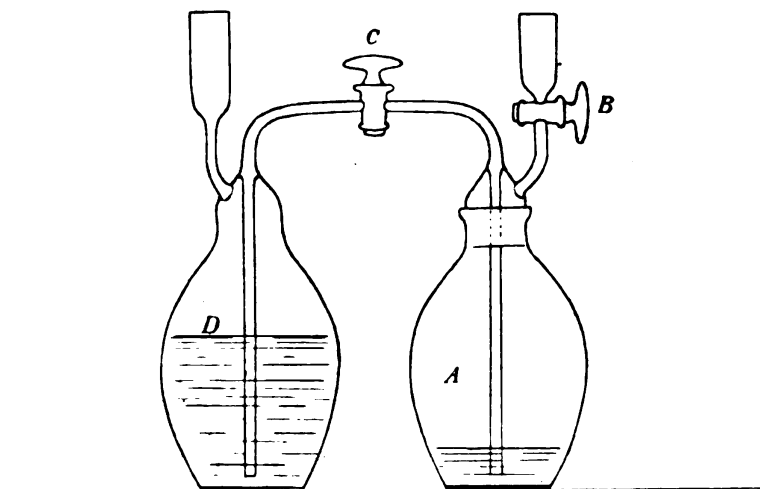


Fig. 1.

Mit dem Apparat wird nun folgendermaßen gearbeitet: Für die Rohkultur wird der erstgenannte Kolben ganz mit folgender Kulturflüssigkeit gefüllt:

Destilliertes Wasser	100
$K_2HPO_4$	0,05
$MgNH_4PO_4$ 6 Aq.	0,1
$CaSO_4$	0,01

und infiziert mit Gartenerde, Jauche oder Grabenwasser; die zwei letzten Materialien bringen am schnellsten Wachstum hervor. Danach wird durch den Zulaßhahn eine bekannte Gasmischung von Sauerstoff und Methan zugelassen, wodurch ein Teil der Flüssigkeit nach dem zweiten Kolben gepreßt wird; ist sie nun im ersten Kolben so weit gesunken, daß darin noch eine Schicht von ungefähr einem Centimeter Dicke übrig geblieben ist, so schließt man den Mittelhahn und darauf den Zufuhrhahn.

Nun wird bei  $30-37^\circ C$  kultiviert.

Nach einem Zeitraum, wechselnd von 2—4 Tagen, nimmt man auf der Flüssigkeit eine Haut wahr, die sehr schnell an Dicke zunimmt

und dann deutlich rötlich-braun gefärbt ist. Unter der Haut beginnt sich dann in der anfänglich helleren Flüssigkeit eine merkliche Trübung zu zeigen, die von Bakterien verursacht wird, welche sich von den abgestorbenen Bakterienkörpern der treibenden Haut nähren. Eine große Anzahl Amöben und Monaden zeigt sich außerdem in der Flüssigkeit und in der Haut.

Analysiert man nun die Gasmischung, nachdem die Kultur eine Woche gestanden hat, so zeigt es sich, daß das Methan gänzlich oder zum Teil verschwunden ist, während sich eine ansehnliche Menge Kohlensäure gebildet hat.

Die genannte Bakterienhaut besteht in der Hauptsache aus einer einzigen Bakterienart und diese hat sich in der Tat bei meinen Untersuchungen als ein Mikrobe erwiesen, welcher das Methan verschwinden läßt.

Er hat die Form eines kurzen, dicken Stäbchens, ist nur in sehr jungen Kulturen beweglich, Länge 4—5  $\mu$ , Dicke 2—3  $\mu$  in der rohen Haut, Länge 2—3  $\mu$ , Dicke 1,5—2  $\mu$  in der reinen Haut, mit einer einzigen Geißel versehen, unbeweglich in der Schleimhaut. In nicht sehr jungen Kulturen ist der Mikrobe kürzer und nimmt eine mikrokokkenartige Form an.

Ich werde diesen Mikroben als *Bacillus methanicus* bezeichnen, weil er bis jetzt mit keiner anderen bekannten Art identifiziert wurde.

Am schnellsten bringt man diese Bakterie in Reinkultur durch Kultivieren in einer Atmosphäre von  $\frac{1}{3}$   $\text{CH}_4$  in  $\frac{2}{3}$  Luft auf ausgewaschenem Agar, der mit den nötigen anorganischen Salzen versehen ist.

Sticht man eine durch wiederholte Ueberimpfung bekommene Haut aus, wenn diese noch jung ist, so erhält man schon am zweiten Tage reine Kolonien des *Bacillus methanicus*, welche eine leichte Trübung zeigen und durch ihre Größe sogleich ins Auge fallen.

Bei der Impfung einer solchen Kolonie im obenbeschriebenen Apparat zeigt sich nach 5—6 Tagen eine Haut des *Bacillus methanicus*. Das Methan ist die einzige Kohlenstoffquelle, welche der Kultur zugefügt war, und muß gleichzeitig für Nahrung und Energie dienen. Ein Teil des Methans wird also festgelegt als Bakterienmaterial, das übrige dient als Energiequelle.

Einer der Versuche, welche ich quantitativ ausgeführt habe, möge zum Beispiel dienen:

Der erste Kolben enthielt 102 ccm Flüssigkeit und nach und nach wurden dazu 225 ccm  $\text{CH}_4$  und 320,7 ccm  $\text{O}_2$  zugefügt.

Die Gasmischung, welche nach 14-tägiger Kultivierung vorhanden war, hatte folgende Zusammensetzung:

78	ccm	$\text{CO}_2$
0	"	$\text{CH}_4$
172	"	$\text{O}_2$

In der Kulturflüssigkeit waren gelöst 21 ccm  $\text{CO}_2$ .

Ein zweiter Versuch ergab folgendes Resultat: Der erste Kolben enthielt 108,5 ccm Flüssigkeit. Allmählich zugefügt

200	ccm	$\text{CH}_4$
331	ccm	$\text{O}_2$

Nach 14 Tagen enthielt die Gasmischung:

72,8	ccm	$\text{O}_2$
39	"	$\text{CH}_4$
138	"	$\text{O}_2$

In der Kulturflüssigkeit waren gelöst 18 ccm  $\text{CO}_2$ .

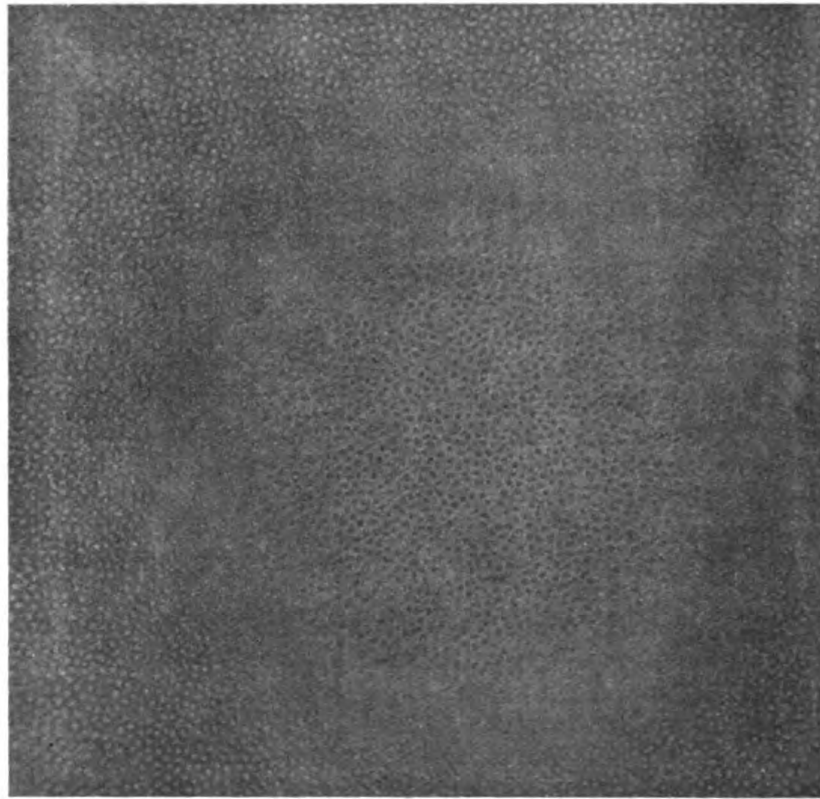


Fig. 2. *Bacillus methanicus*, Reinkultur. Vergr. 600.

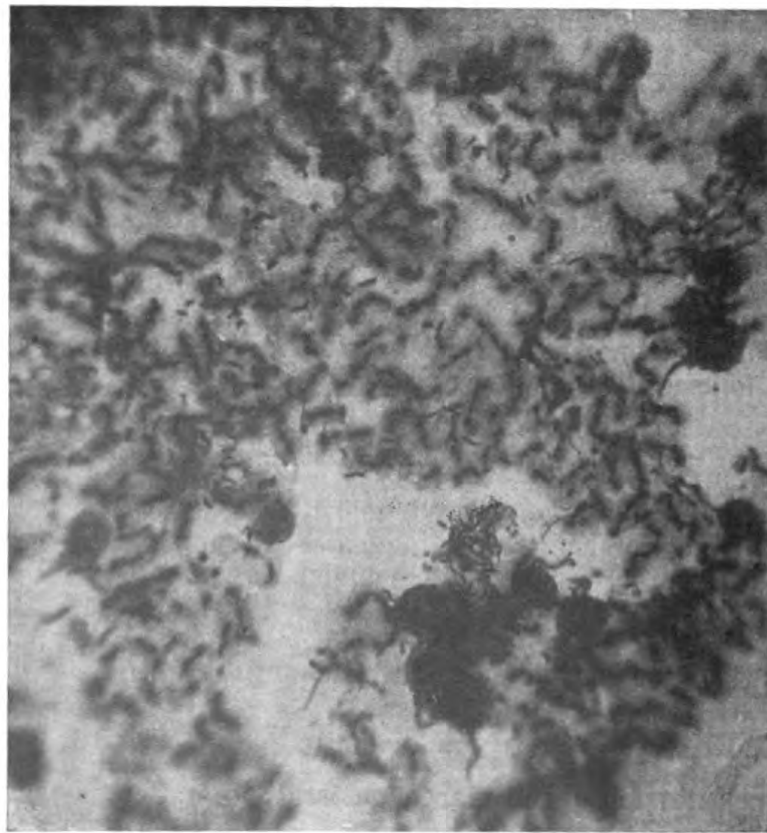


Fig. 3. Rohe Bakterienhaut. Vergr. 600.

Original from

HARVARD UNIVERSITY

Wie aus diesen beiden Versuchen hervorgeht, ist der Teil des Methans, der zu dem Aufbau der Bakterienkörper dient, sehr bedeutend.

Daß wirklich große Mengen organischer Substanz in der Flüssigkeit angehäuft waren, wurde außerdem noch durch Oxydation mit Permanganat und Schwefelsäure gezeigt.

100 ccm der Kulturflüssigkeit des ersten obengenannten Versuches verbrauchen 48,3 ccm  $\frac{1}{10}$  N.  $\text{KMnO}_4$ , 100 ccm der Kulturflüssigkeit des zweiten Versuches 25,8 ccm  $\frac{1}{10}$  N.  $\text{KMnO}_4$ .

Weitere Untersuchungen über die Bakterien und das Gleichgewicht zwischen dem verbrauchten Methan und der Bakterienmenge hoffe ich bald auszuführen.

Die beschriebenen Versuche sind im mikrobiologischen Laboratorium zu Delft unter Leitung des Herrn Professor Dr. M. W. Beijerinck ausgeführt worden.

*Nachdruck verboten.*

## A new chromogenic slime-producing organism.

By F. C. Harrison and B. Barlow,

Bacteriological Laboratories, Ontario Agricultural College and Experiment Station,  
Guelph, Canada.

The organism here described was isolated from a sample of "oily" butter sent to the Laboratory for examination. The oily character of the butter was not, however, produced by this organism. This microbe aroused our interest on account of its ability to form slime and crystals and also on account of the wide range of colors which it produced; hence the morphological and biological characters were worked out in some detail. Following the classification of Migula, the name proposed for the organism is *Bacterium visco-fucatum*; following that of Alfred Fischer, *Bacillus visco-fucatus*.

**Morphology.** The cells were usually cylindrical rods 1,0 to 1,8  $\mu$  long and 0,6 to 0,9  $\mu$  wide. They were straight, curved or bent, usually of even thickness but frequently tapering at one or both ends. The ends of the cells were rounded. They occurred singly, in twos, and rarely in chains of 3 to 5 elements. Such cells as these were found in young cultures in liquid media kept at temperatures below 27° C, and on solid media at temperatures between 40° and 37° C.

Elongated, branched and cuneate forms were common in old cultures kept at temperatures below 25° C and in young cultures at temperatures above 27° C, and in certain special media. These cells were 4 to 9  $\mu$  long and up to 0,9  $\mu$  wide. The cuneate forms were 0,9  $\mu$  at the larger end and 0,3  $\mu$  at the smaller end. The branched forms were frequently complicate and sometimes tangled together, reminding one of a "clumping" formation. After the branched forms had become numerous, they broke up by transverse segmentation into short, oval elements. Such forms as these were common in milk and in liquid cultures after 10 days' growth at 25° to 27° C, also in liquid cultures at 37° C and in water with 1 per cent. peptone, with or without sucrose 5 per cent., and in the synthetic media of Fermi, Cohn and Ushinsky.

**Capsules.** Bacilli taken from agar and sucrose agar, and probably from all media which became slimy with the growth of the organism, were capsulated. The capsule was demonstrated by Welch's capsule stain.

**Flagella.** The organism was non-motile.

**Spores.** Frequent examinations of stained preparations from old and young cultures failed to reveal the presence of spores.

**Stains.** The organism stained well with the ordinary aniline colors and also by Gram's method. The bacilli stained with Loeffler's alkaline-methylene-blue showed banded protoplasm or irregular staining with meta-chromic granules.

Beef peptone 10 per cent. gelatine was unfavorable for growth, and with carbohydrates was unfavorable for pigment formation, 6 per cent. gelatine was better, and washed gelatine best.

Plate cultures in gelatin with carbohydrates, The medium used in these experiments was made of: gelatin 6 per cent., NaCl 0.5 per cent., Liebig's beef extract, 0.25 per cent., acidity + 5°.

After the plates were poured and before the gelatin had set, the carbohydrates were added in the form of strong solutions in water. In each plate both the bacteria and the carbohydrates were unequally distributed. The plates were incubated at 20° C.

In 24 hours the colonies were minute and in 40 hours there was no pigment. In 5 days the surface colonies were 1 mm in diameter, the deep colonies 0.5 mm and liquefaction had begun in parts of the plate where colonies were most numerous. The colonies were slimy and could be drawn out in threads. The liquefied gelatin was not slimy as long as the colonies in it remained discrete.

Much pigment developed; the colors were of two kinds, blue and violet in gelatin with sucrose, dextrose, mannite and maltose; and green in gelatin with galactose, dextrin, starch, and with no carbohydrate. The violet was more the color of gentian violet than the violaceous of Saccardo's chart.

Pigment grains were numerous in the gelatin which developed a strong violet and blue pigmentation. The colonies in maltose gelatin were violet or violet centred and few pigment grains were present.

The saccharose gelatin was bright blue in some parts and violet in others, the dextrose gelatin and the mannite gelatin were generally bright blue but were dark green in places. The colonies and the gelatin were rich in pigment grains in those parts where the gelatin was colored, i. e., where there was most sugar.

The colonies in maltose gelatin were violet or violet-centred with diffused pigment, a few pigment grains were present.

The galactose gelatin was green and dark green and the colonies the same color and rich in pigment grains or else brownish with none. The dextrin gelatin showed less color and no grains in the colonies. There was not sufficient dextrin added. The starch gelatin showed scattered pigment grains.

The gelatin without carbohydrates developed only a yellow-green tint, and no pigment grains. Colorless crystals were very numerous in the gelatin. In form they were twin pyramids with square bases placed base to base and the plane of the base horizontal. Isolated colonies were each surrounded at a certain distance in the gelatin by a ring or zone of such crystals, but between crowded colonies the crystals were



thickly strewn. In the gelatin with sugar there were no crystals or at least none in those parts of the plate where sugar was present as indicated by the rich pigmentation. With starch and with dextrin there were crystals, especially where there was least pigment. Crystals never formed in a zone around a colony containing pigment grains.

In twelve days all the plates of this series were liquefied and the blue and violet pigment was discharged, leaving the liquefied gelatin yellowish or greenish yellow and very slimy. Some violet and blue pigment remained, however, in the sucrose gelatine.

Stab cultures in gelatin with carbohydrates. Stich cultures in gelatin of the same composition as that used for the plate cultures behaved as follows:

Medium	Days	Growth, pigment and liquefaction
All media	1	Growth in all raised, circular, could be drawn out in slimy threads, white or else pigmented. Growth along the line of inoculation slight and increasing little in 10 days or more.
	8 to 10	Liquefaction began in 8 days in mannite gelatin; in 10 days in the others.
	to 24	It was crateriform or napiform, slowly becoming stratiform or funnel form.
	30 to 60	In 30 days the maltose gelatine was liquefied to the bottom. In 60 to 64 days all were liquefied to the bottom. The liquefied gelatin was turbid, dark or inky above, amber to rust colored below. There was much white ropy sediment.
Sucrose, Mannite and Dextrose	64	
	1	In 24 hours there was much dark violet color diffusing in the gelatin from the point of puncture, most with sucrose. None in the other media in 24 hours.
Sucrose	8	Growth 7 to 8 mm across, circular with wavy outline, raised, wet-shining, and slimy. The growth was bright blue toward the center, light blue toward the margins; the medium dark violet (gentian), violet, and lilac to a depth of 15 mm.
	18	All the gelatin was of a rich violet color.
	24	Liquefaction napiform. Surface growth a ragged, lobulate, lead colored colony. The unliquefied gelatin transparent, wine colored above and violet at the bottom.
	30	Liquefaction funnel form, reaching half way to the bottom, color lilac.
Galactose	64	Liquefied to the bottom, with an inky layer above.
	18	Blue and some violet in medium and in the growth.
Mannite Lactose Galactose Dextrose Glycerine	24	Liquefaction stratiform, the liquefied gelatin turbid, with an upper darker layer, amber colored below, as was also the unliquefied gelatin.
	18	Liquefaction crateriform with a light blue floating colony; unliquefied gelatin bright blue and violet.
Maltose	18	Some violet pigment.
	24	Liquefaction stratiform, a smoky layer near the surface; unliquefied gelatin amber.
	30	Liquefied to the bottom, amber colored, copious sediment tough and ropy.
No carbohydrate	1	Growth, no pigment.
	8	Surface growth 4 mm across, raised, moist-shining, white. Growth along the line of puncture slight, filiform. No pigment.
	24	Liquefaction stratiform; medium, a light yellow-green color throughout.
	30	Stratiform, a slight darkening in color.

Potash gelatin with carbohydrates. 50 grams of gelatin were soaked in 500 ccm of decinormal KOH for three hours. The gelatin was then washed in running tap water for 9 hours, when the washed gelatin weighed 690 grams. After dissolving in steam the solution was found to be alkaline  $-3^{\circ}$ . This medium is hereafter referred to as K and served as a base for the following media:

Medium K + Sucrose 2 per cent., referred to as KS.

Medium K + 1 per cent. peptone and  $\frac{1}{2}$  per cent. salt, was steamed and filtered. The filtrate was alkaline  $-1^{\circ}$ . This medium is referred to as KP, and to 50 ccm portions of it various carbohydrates were added, as follows:

Sucrose	2	per cent.	referred to as	KPS
Lactose	2	"	"	KPL
Dextrin	2	"	"	KPDn
Dextrose	2	"	"	KPD
Glycerine	2	"	"	KPG
Gelactose	2	"	"	KPGa

All the above media were tubed and sterilized in flowing steam on three successive days.

Potash gelatin with carbohydrates. Stich cultures at  $18-22^{\circ}$ .

Medium	Days	Growth, liquefaction, pigment
All	1	Raised at puncture, filiform along line of puncture.
All but K, KS	5	Growth increasing at the point of puncture, raised, wet-shining, slimy, circular 2-3 mm across; filiform in depths.
K, KS	3	Liquefaction beginning, crateriform.
KPDn	6	Surface growth depressed.
K, KP, KPDn	7	Liquefaction crateriform, becoming stratiform in 11 days.
KPS, KPD	11	Growth raised, no liquefaction. Liquefaction in all the others.
KPD	1	Bright blue diffusing in the gelatin from the surface growth.
	2, 3	Pigment increasing, surface growth also bright blue.
KPS, KPD	11	Bright blue and vinous diffusing half way to the bottom.
KPS, KPDn	1	A faint green-blue color diffusing from the point of puncture.
KPG, KPGa		
KPL, KS	2, 3	Increasing, the raised growth light blue, some bright blue diffusing from the point of puncture. Pigment hardly $\frac{1}{10}$ as much as in corresponding slanted gelatin tubes.
	5	
Same except KS	11	Liquefaction slight, crateriform.
All	40	Liquefaction stratiform.
KPD, KPS	*40	Still rich in pigment. The unliquefied gelatin light blue and vinous below and ochre yellow above.

Potash gelatin with carbohydrates. Streak cultures on the inclined gelatine at  $18^{\circ}$  to  $22^{\circ}$  C.

Medium	Days	Growth, pigment, liquefaction
All	1	A narrow band of growth.
	2	Growth equal, increasing, no liquefaction.
All except KS	3	Band of growth 2 mm across, raised, wet-shining, slimy, drawing out in threads.
KPS, KPDn, KPL	1	Pigment diffusing from the growth, emerald green to green-blue.
KPGa, KS		

Medium	Days	Growth, pigment, liquefaction.
KPD	1	Same, also bright blue.
KP	1	Faint green-blue, fading later.
KPD, KPS	2	Gelatin of the slant bright blue and vinous when viewed lengthwise. The growth itself light blue.
KPGa, KPL, KPDn	6-7	Colors bright blue and dark blue.
	2	Gelatin and growth green-blue.
	4, 5	Bright blue and vinous.
KS	3	A furrow of liquefaction under the growth, little blue pigment, fading later through lilac.
KP, KPDn	5	Liquefaction, most in KP, none in the others.
All but KS and KP	6, 7, 8	In the 5 strongly pigmented cultures the edges of the band of growth viewed with the microscope were seen to be striate with transverse bands of pigment grains. Pigment grains were also scattered in the gelatin just beyond the edges of the band of growth.
	12	The vinous color increasing, especially just under the growth. No liquefaction.
KS, KP	30	Half liquefied.
	38	Nearly all liquefied. KP amber, KS colorless.
KPDn, KPL, KPGa	20, 24	Less liquefaction, pigment decreasing
	38	$\frac{2}{3}$ liquefied, colors various green blue and lead color fading to amber, and rust color below.
KPS, KPD	20, 24	Slight liquefaction, gelatin dark blue, bright blue and vinous.
	38	Gelatin half liquefied and green-blue with lead color, amber to rust color below.

Potash gelatin plates. Plate cultures were made with potash gelatin containing various carbohydrates and incubated at 18° to 22° C. In 24 hours no colonies were visible. In 2 days colonies were visible in all the plates. Further observations are tabulated below.

Medium	Days	Colony, pigment, liquefaction, crystals
All	2	Punctiform colonies. Under the microscope, round, entire, homogenous, finely granular, brownish.
	3	Colonies larger; surface ones up to 5 mm, deep ones smaller. Colonies darker than the pigmented gelatin, a deep green-blue color in the gelatin.
KPS, KPGa	2	Green-blue tint in the gelatin where thickly seeded. Pigment grains through the whole depth of the gelatin, none in the colonies. No pigmentation in the other plates.
KPS, KPD, KPG, KPL, KPGa	3	Rich in pigment grains from this time on. KPGa showed fewest grains and evenly scattered.
	3	Colonies — surface raised, round, entire, brownish by transmitted light, green-blue by reflected light.
	4 and 5	Colonies 0.5 to 1.5 mm in diameter. Surface colonies raised, wet-shining, and coalescing. Deep and surface colonies were slimy and could be drawn out in threads. Colonies dark with numerous pigment grains at the centre.
KPS, KPD	4	Pigmentation green-blue but in parts with fewer colonies a deep blue pigmentation.
KS, KP, KPDn	2 to 10	Slight pigmentation. In 2 days a yellow-green tint, in 5 days grains in the centres of some colonies and a few in the gelatin.
		Liquefaction began in 5 days.
KS		In 3 days no pigment, in 4 days emerald green. In 5 days darker with green-blue and pale blue. Liquefaction began in 3 days and gelatin was liquefied in 4 days.

Medium	Days	Colony, pigment, liquefaction, crystals
KP	3, 4, 5	Gelatin light yellow-green, color gone in 5 days.
KP	5	Crystals very numerous in the gelatin, the simple ones as double pyramids with square bases placed base to base. No crystals in the plates with carbohydrates.
KP, KPGa	5	Liquefaction began.
KPG, KPD, KPL	7	Liquefaction began.
All except KPS	10	Liquefied. Liquefaction began where colonies were most numerous, the discrete colonies floated in the liquefied gelatin which later became turbid and mucus-like and drew out in slimy threads.
KPS		Liquefaction delayed beyond 10 days.

Summary of growth of colonies in potash gelatin. Colonies appeared in 2 days and increased to 1 mm in diameter in 4 days. Liquefaction varied with the medium and was delayed by the presence of peptone and especially of peptone and sucrose, though these foods stimulated growth. Peptone was not essential to pigmentation in gelatin with carbohydrates, for in such media, color and pigment grains appeared, but the presence of peptone greatly stimulated the production of pigment in such media.

In peptone gelatin plate cultures without carbohydrates crystals formed but no pigment grains; in the same gelatin with carbohydrates pigment grains formed but no crystals. This was also true of test tube cultures.

Occurrence, position and form of the pigment grains. These observations apply to the plate cultures which were rich in pigment grains.

Pigment grains occurred in the colonies, on the colonies and in the gelatin outside the colonies. These were blue-black or sometimes blue, opaque, spherical or rounded, non-crystalline masses from minute size up to 10  $\mu$  or 18  $\mu$  across. Where densely crowded, compound grains might occur but for the most part they were simple.

Colonies in the same plate differed, having few, many or none of the pigment grains, superficial, internal or external. More of the deep colonies than of the surface colonies had internal pigment grains. Some of the small deep colonies were black and coarsely granular with pigment grains throughout their mass and such colonies were surrounded with a zone of these grains in the gelatin beyond their border. Other deep colonies had most of the grains near their centres so that they appeared black centred and, according as these colonies had pigment diffused throughout their mass, or no diffused pigment, they were blue zoned or brown zoned. Deep colonies and surface colonies had large and less numerous pigment grains distributed evenly in their mass or on their surface. Most surface colonies had the grains not internal but superficial and assembled in several patches which frequently occupied as much as one quarter of the surface.

Pigment grains were somewhat evenly scattered in the gelatin between colonies if the latter were evenly distributed, but were in a circle around the isolated colonies to the number of 100 or more, and in such zones the size of the grains diminished as the distance from the colony increased. The grains in the gelatin were not equally numerous at all depths but most of them lay in a plane at the depth of the bottom of the surface colonies.

The crystals elsewhere described do not form in cultures with pigment grains.

Plate cultures in Liebig peptone agar at 20° C. In 5 days the surface colonies averaged 1 mm in diameter, round, raised, wet-shining, white. Under the microscope, round, entire, finely granular, brownish by transmitted light, thinner and lighter at the margins, sometimes one zoned. Surface colonies readily coalesced with a line at the union.

In 5 days deep colonies were up to 0.5 mm in diameter, round, oval or elliptical, yellowish and opaque. The growth could be drawn out in slimy threads from all the colonies. There was a yellowish tint in the colonies and medium but no pigment grains. Crystals were present. The cultures had an unpleasant acid odor.

Plate cultures at 25–27° C grew more rapidly, otherwise the same as at 20° C.

Agar cultures. Agar of the following composition was made up: Agar 1 per cent., tap water, 100 ccm, normal sodium hydrate 1 ccm. This was heated, filtered and divided into two portions, one was tubed and referred to later as plain agar, and to the other was added 1 per cent. of sucrose. The reaction was alkaline — 5° to phenolphthalein. The tubes were inclined, inoculated and incubated at 18–22° C.

Growth was slow on plain agar. In 18 days it had increased somewhat and could be drawn out in slimy threads. There was no pigment and Fehling's solution was not reduced.

Growth was more rapid and abundant on the sucrose agar. The water of condensation and the growth on the slant were very slimy, but there was no pigment. Growth increased up to 18 days when there was no pigment and Fehling's solution was strongly reduced. In 33 days there was no pigment.

Agar and sucrose agar at 20° C. Nutrient agar of the following composition, — Liebig's extract 0.5 per cent., peptone 1 per cent., salt 0.5 per cent., agar 1.2 per cent., acidity + 4.5° — was used alone or with various percentages of sucrose. The inclined agar was inoculated and incubated at 18–22° C.

Growth was rapid and abundant on these media, but was somewhat retarded on that containing 20 per cent. and 25 per cent. of sucrose. Pigmentation was unequal; plain agar showed only a slight discoloration, that with sucrose  $\frac{1}{10}$  per cent. a faint blue pigmentation and with 25 per cent. none. The 1 per cent., 5 per cent., 10 per cent. and 20 per cent. sucrose agars produced a deep blue pigmentation. All with sucrose, 1 per cent. or more, reduced Fehling's solution after 6 days.

A similar lot of media was kept at 25–27° C. There was growth on all the agars in 24 hours, and in three days there was abundant growth, that on the 20 per cent. sucrose agar was a little restrained.

There was no pigment in 30 hours but in 2 days there was pigment in all the agars with sucrose. With 5 per cent. and with 10 per cent. sucrose there was a deep blue pigmentation in 3 days, and a faint blue pigmentation in tubes containing  $\frac{1}{10}$  per cent., 1 per cent. and 20 per cent. sucrose. In 4 days most of the pigment had disappeared and in 5 days from inoculation it had completely discharged.

Cultures on 1 per cent., 5 per cent., 10 per cent. and 20 per cent. sucrose agar strongly reduced Fehling's solution.

Plain agar and 20 per cent. sucrose agar cultures were alive at the end of 55 days.

**Blood Serum.** On Loeffler's serum kept at 37° C growth was raised, shiny, and yellowish white in color. There was no liquefaction. The culture was then placed at a lower temperature but no pigmentation or liquefaction ensued.

**Beef peptone bouillon.** Bouillon with Liebig's extract 0.25 per cent., peptone 1 per cent., salt 0.5 per cent., was made neutral to phenolphthalein and from it bouillons were prepared having the following alkalinities; —5°, —10°, —20°, —35°, —40° and 60°. A little sucrose was added to some of the tubes, and such media is marked S.

Growth in alkaline bouillons at 18–22° C.

Numerals denote degrees of alkalinity. S stands for sucrose. ± neutral.	Growth, sliminess, pigment, reduction
—5 S, —10 S, —20 S ±, —5°, —10°, —20° —40 S, —40	In 24 hours turbid and which ropy sediment, increasing for 27 days, abundant growth. In 8 days no growth, in 12 days turbidity and ropy sediment increasing for 27 days.
—35° —60°	In 20 days a little growth. In 27 days no growth.
± S, —5 S, —10 S ±, —5°, —10°, —40° S —20°, —40°	In 20 days so slimy as to draw out in threads. In 27 days so slimy as to draw out in threads. In 27 days not so slimy as to draw out in threads.
± S, —5 S, —10 S	In 20 days and in 27 days strong green-blue pigmentation from the surface 10 mm or less deep, in the ± S a little pigment, others none.
± S, —5 S, —10 S —40 S	In 12 days reaction was acid, all reduced Fehling's solution. In 20 days reaction was alkaline, no reduction. In 27 days reaction was neutral, strong reduction.

Duplicate cultures were incubated at 37° C and growth took place up to alkalinity —20°, but not above. The temperature fell a little and pigment appeared in ± S. A ring formed on the tube at the surface of the liquid in —5° and ± S. Later the cultures were placed at 20° C and growth became like these kept at that temperature.

**Conclusions.** Growth took place in bouillons made alkaline with normal NaOH up to —40° but not when alkaline —60°. In bouillons neutral or alkaline up to —10° growth was more abundant than in bouillons alkaline —35° or more. Pigmentation took place in sucrose bouillons alkaline up to —10°, best when alkaline —5°. Sucrose stimulated growth and greatly aided pigmentation. Growth in alkaline bouillon and alkaline sucrose bouillon reduced the alkalinity and inversion was delayed until the free alkali was neutralized.

**Growth in acid bouillons.** Portions of the neutral bouillon already referred to were modified with lactic acid and with lactose to form the following media: ±°, +6°, +6° L, +15° and +15° L, the numerals denoting the degree of acidity and L indicating the presence of lactose.

The media were inoculated and incubated at 20° C. The ±°, +6°, +6° L, were turbid in 24 hours and the turbidity and sediment increased daily for 20 days. There was abundant growth in 15 days but no pig-

ment. In 20 days there was a faint green blue color in  $+6^{\circ}$  only. There was no sign of growth in the  $+15^{\circ}$  nor in the  $+15^{\circ}$  L.

Conclusions. Lactic acid was unfavorable for growth and when added to neutral bouillon to the amount of  $+15^{\circ}$  prevented growth.

Growth at different temperatures in beef peptone bouillon containing various amounts of sucrose.

In the table below the per cent, refers to grams of sucrose contained in 100 ccm of the medium.

The time indicated is from inoculation, thus, "growth retarded 3 days" means that until 3 days from inoculation the growth was less than in the bouillon without sucrose.

Per cent of sucrose present	Growth and inversion
Temperature $37^{\circ}$ C.	
0, $\frac{1}{10}$ , 1, 10, 20, 25, 50	In 24 hours turbid. Turbidity and ropy sediment increased during 9 days.
25, 50, saturated solution	Retarded; 25 perc. for 4 days, 50 perc. for 9 days, and saturated for 9 days and more.
All	All failed to reduce Fehling's solution in 24 hours.
1, 10, 25, 50	Reduced Fehling's solution in 2 days, strongly in 9 days.
Saturated	Failed to reduce in 2 and 4 days but reduced strongly in 9 days.
Temperature $25-27^{\circ}$ C.	
0, $\frac{1}{10}$ , 1, 10	In 24 hours growth in these only.
20, 25, 50	In 2 days, growth. In 25 days growth scanty in 50 per cent.
0, $\frac{1}{10}$ , 1, 10, 20, 25	In 9 days growth increasing, abundant, all about equal, a copious white ropy sediment.
1, 10, 20, 25	In 24 hours, 2 and 4 days, reduced Fehling's solution.
50	In 4 and 9 days no reduction, in 20 days some reduction.
Temperature $18-22^{\circ}$ C.	
0, $\frac{1}{10}$ , 1, 10, 20, 25	In 24 hours turbid with ropy sediment.
50	On 4 days slight growth.
$\frac{1}{10}$ , 1, 10	Growth increased daily and in 6, 14 and 20 days was copious.
20, 25, 50	Growth increased but was retarded 20 days, little growth in 50 per cent.
1, 10, 20	These reduced Fehling's solution in 24 hours, strongly in 3 and 4 days.
25, 50	In 2 days reduced Fehling's solution, the 50 per cent. only slightly in 2, 5 and 9 days.
0, $\frac{1}{10}$	In 9 days no reduction. With $\frac{1}{10}$ per cent. of sucrose evident reduction has never been observed in cultures incubated at any temperature.
Low temperatures about $2^{\circ}$ C most of the time, minimum observed — $-0.5^{\circ}$ C, maximum $4^{\circ}$ C.	
5, 10, 20	In 27 hours growth in these only.
$\frac{1}{10}$ , 1, 10, 20, 25	In 2 days growth in these increasing in 6 and 13 days.
1, 10, 20, 25	In 13 days all strongly reduced Fehling's solution.
50	Slightly reduced in 13 days.

Character of the growth. The liquid became turbid and a ropy white sediment appeared, both the turbidity and the sediment increased. On shaking the culture with a circular motion, the tenacious sediment rose in the liquid and twisted or coiled on itself in a spiral column. It diffused on persistent shaking and settled out on standing.

The above description is applicable to all cultures observed in transparent liquid media.

None of the cultures of this series became so slimy as to draw out in threads. The bouillon was not the most favorable liquid medium for growth.

Color appeared only in the  $\frac{1}{10}$  per cent. and the 1 per cent. and only at 18° to 22° C. It appeared in 6 days and disappeared in 20 days, passing through the green-blue pigmentation. The bouillon was unfavorable for pigment formation even with the sucrose.

Sucrose was inverted at all temperatures and in all the concentrations, except  $\frac{1}{10}$  per cent., the most favorable concentrations were 10 per cent., 1 per cent. and 20 per cent.

Growth in lactose bouillon. Beef peptone bouillon with lactose 0 per cent.,  $\frac{1}{10}$  per cent., 1 per cent., 10 per cent. and 15 per cent. Growth took place at all temperatures between 4° C and 37° C. Lactose 10 per cent. and 15 per cent. retarded growth more or less. In 13 days, there was strong turbidity and much ropy sediment in all tubes of this series. In 35 days the  $\frac{1}{10}$  per cent. and 10 per cent. were so slimy as to draw out in threads. Other cultures of this series became viscid but not so slimy as these. At the higher temperatures there was a tendency to form growth on the sides of the tubes. This bouillon was not the most favorable liquid medium for growth or pigmentation. A pale green-blue pigment developed at 18 to 22° C in the  $\frac{1}{10}$  per cent. in 8 days and in the 1 per cent. in 25 days.

Dunham's solution. In 24 hours at 18° to 22° C or at 25–27° C there was little turbidity, increasing, with a ropy sediment, in 2 days. A faint green-blue tint appeared in 5 to 9 days; it increased a little and in 22 days faded out, leaving the medium amber-colored. The cultures became viscid and at length so slimy as to draw out in threads. This took place in 6 days at 25° to 27° C but required more time at 18° to 22° C.

Dunham's solution with sucrose 5 per cent. A tube was inoculated and kept at room temperature and first observed after 4 days. It was then turbid and so slimy as to draw out in threads. It had developed a green-blue color. There was inversion of the sucrose. In 6 hours after the first observation the culture was visibly darker and there was a perceptible daily increase in color for 3 more days. The culture remained dark green-blue for some days but after 25 days the color began to fade to lead color and blue-green. The culture became very slimy. In 8 days it could be drawn out between two test tubes to a length of 2 meters and when 1 ccm of the culture was shaken with 10 ccm of water, the liquid was colored green-blue and could be drawn out in short threads.

At 18° to 22° C. In 24 hours there was growth but no inversion of the sucrose; in 3 days growth had increased, there was strong inversion and a green-blue pigment appeared. In 5 days the culture drew out in threads. In 12 days the color was deep blue above and green-blue below.

At 25° to 27° C. A number of cultures were observed. They usually became a little turbid in 24 hours and turbid with ropy white sediment in 48 hours. In 66 hours cultures were so slimy as to draw out in threads and there was a strong inversion of the sucrose. The colors were as at the other temperatures, but the duration of the bright



color was shorter than at 18° to 22° C. In 20 days most of the pigment was gone and the cultures were amber colored below.

Pigmentation was hastened and intensified by inclining the tubes so that the surface of the liquid was exposed to the air throughout the length of the tube.

Growth in milk. Separated milk, acid +17°, was filled into sterile test tubes, 10 ccm in each, and into small sterile Erlenmeyer flasks, 100 ccm in each. Merck's purified litmus was added to part of the milk before tubing it. The milk was sterilized on 3 days in flowing steam and was then incubated to insure sterility. Uninoculated controls remained unaltered throughout the following experiments.

Milk flasks at 18° to 22° C. Flasks of 100 ccm were inoculated with one 2 mm loopful of culture. In 24 hours there was usually no change evident. In 25 to 40 hours a weak grey-blue or green-blue color appeared diffusing downward  $\frac{1}{3}$  the depth of the milk and the milk in the surface layer became so slimy as to draw out in long threads. In 3 days the color zone was light blue and in 4 days bright blue. In 6 or 7 days peptonization began in a thin layer below the color zone and progressed slowly, being only 4 mm deep in 10 days. The peptonized milk was amber colored, translucent and very slimy. From this peptonized layer to the bottom, the milk was white and apparently unaltered, as stained preparation from this part of the milk showed few bacterial cells. Thus for 10 days growth was confined to a surface layer.

In 9 days cultures showed no coagulation even on boiling, but in 20 days a soft curd had separated and settled. Except for some floating pigment grains, all blue color was gone, the whey was amber colored and about the consistency of the white of an egg. There was an acid odor and on testing the hot milk after boiling the acidity was found to be +35°.

Milk tubes at 18° to 22° C. Growth in test tubes was much the same as in flasks. The maximum pigmentation varied in different tubes from light blue to bright blue and even to dark blue, the more intense the color the more narrow the colored layer. In 6 days the peptonized layer was 2 mm deep and deeper in 11 days. In 11 days some tubes showed coagulation on boiling.

Milk flasks at 25° to 27° C. The changes were more rapid than at lower temperatures. Inoculated with one loopful the milk became slimy throughout, or at least at the bottom, in 24 hours, and very slimy in two days. In 1 or 2 days a diffuse green-blue color appeared in the upper half of the milk, changed to light blue and began to fade in 5 or 6 days. In 8 days nearly all the color was gone. The peptonized layer was 5 mm deep in 5 days and 10 mm in 8 days. In 9 days there was a soft curd, partially separated, and the acidity was +22°. In 16 days the acidity was +28°, the curd had settled and the amber colored whey was thick and slimy. In 26 days the curd was not wholly digested, the acidity was +52° in one flask and +90° in a second flask. Stains were made and the cultures were apparently pure. Complete digestion of the curd and loss of sliminess have been observed in old milk cultures.

Milk tubes at 25° to 27° C. Growth in tubes was slower than in flasks. In 9 days there was peptonization but no coagulation; in 10 days the curd separated in fine flakes on boiling; in 16 days there

was complete coagulation, the curd was amber to ochre-yellow and the cultures acid +28°. Litmus was more rapidly reduced than at 18° to 22° C.

Milk at 37° C. With ordinary inoculation it was difficult to obtain growth in milk at 37° C, but growth followed liberal inoculation. The cultures became slimy and the curd separated in 2 days; there was no pigment.

A flask was incubated at 25 to 27° C until a sky blue layer appeared. It was then put at 37° C and in 8 hours most of the color was gone. All color disappeared in 24 hours but on incubation at the lower temperature the blue color returned. This was repeated, using the same culture and with the same results.

There was no growth in milk at 38.2° C.

Growth in whey and peptone whey. Whey acid +18° was partly clarified by steaming and straining. It was then heated an hour with CaCO<sub>3</sub> in excess of the acidity, i. e., 2 grams per litre. It clarified and the filtrate was greenish yellow, bright and clear and acid +11°. Peptone 1 per cent. was added to a part which was then heated and filtered. Both lots were tubed and sterilized in steam. In whey with peptone the growth at 18 to 22° C was much as in Dunham's solution with sucrose 5 per cent. but more copious. Cultures were soon very slimy. An abundant ropy sediment accumulated in the bottom of the tube, a heavy slimy ring and a film formed at the surface and slimy filaments depended from the surface to the bottom. A strong green-blue pigment developed and the surface layer became bright blue.

In the whey without peptone there was abundant slimy growth but no ring nor film and no pigment.

Growth on potato at 18° to 22° C. The half cylinders of sterilized potato in test tubes showed growth in 24 hours and pigment in from 24 to 40 hours, depending on the amount of inoculating material. After two days growth increased rapidly to a yellowish white, raised, wet-shining, slimy band, sharply defined at the border. In 7 to 12 days this growth covered the whole surface of the potato with a slimy layer. The potato was rich in pigment in 24 to 48 hours, but the growth itself showed no color or only traces of color for 4 or 5 days and then became blue-gray or light blue while the potato was bright blue or dark blue.

The pigment appeared first as a green-blue tint in the potato. A few hours later the color was light blue then bright blue and it had penetrated through the cylinder of potato just above the water and appeared as a blue spot on the opposite side. In 4 to 7 days the color had spread through the whole mass of the potato above the water and had turned a dark blue. The water in the bottom of the tube became slimy, drawing out in threads, and occasionally it became bright blue. After 12 days the pigment decreased to light blue and green-blue. First the part of the potato beneath the surface of the liquid in the bottom of the tube lost its pigment and became amber; this change progressed upward and at length the whole cylinder was ochre yellow to rust color. Some blue color, however, might remain in the upper part of the potato.

At 25° to 27° C the growth and pigmentation were the same as at 18° to 22° C except as here noted. Color developed within 24 hours and became as intense as at the lower temperature. The period of

pigmentation was shorter, lasting only 4 days and growth was little less copious.

At 37° C there was growth in 24 hours, increasing for 12 days but much less abundant than at the lower temperatures. No pigment was produced at 37° C.

Growth in synthetic media. Tubes of Cohn's mannite medium, Fermi's medium and Uschinsky's medium were inoculated and incubated at 3 temperatures.

At 18° to 22° C. There was growth in all, most in Uschinsky's medium. In 2 days all were turbid with ropy white sediment, but there was more growth in Uschinsky's medium and Cohn's than in Fermi's medium. Growth increased in this order for 10 days and Uschinsky's and Cohn's media became viscid but did not draw out in threads.

At 25° to 27° C. In 24 hours there was good growth in Cohn's and Uschinsky's, none in Fermi's medium. In 2 days all were turbid with an abundant ropy white sediment in Cohn's and but little in Fermi's media. At length, however, there was more growth in Fermi's medium so that it alone could be drawn out in slimy threads.

At 37° C. There was growth in 24 hours in Uschinsky's media, which increased for two days, no growth in the others. In 8 days the growth had increased in Uschinsky's medium and there was a slight growth in the others. The growth in Fermi's medium was in the form of little white dots or specks in the liquid. At 38° C there was a slight growth in Uschinsky's medium only.

Oxygen requirements. Two sets of media were inoculated. The tubes of one set were put aside at room temperature and the others were put in a Novy jar and a stream of purified hydrogen was passed through the jar for 2 hours, after which the jar was sealed and set aside at room temperature.

The tubes in the air of the room developed their characteristic slimy and pigmented growths. Thus, the potato became bright blue in 24 hours, the culture in 1 per cent. peptone and 5 per cent. sucrose in tap water slowly became green-blue and so slimy as to draw out in long threads and the culture on plain agar was slimy, without pigment formation.

After 3 days the Novy jar was opened. There was growth in the control tubes inoculated with colon bacillus, but there was no growth in the tubes inoculated with the blue slimy organism. The organism was not dead, however, for on removal to the air, the potato tube developed growth and a bright blue pigment in 24 hours, and the cultures on agar alkaline — 50° + sucrose and in Dunham's solution and Dunham's solution + sucrose 5 perc. developed their characteristic slimy growth and pigment.

Conclusion. The organism does not grow in an atmosphere of pure hydrogen.

Growth on agars in test tubes closed with sealing-wax. The medium was beef extract peptone agar modified with lactose  $\frac{1}{10}$ , 1, 5, 10, 20 and 25 per cent. The tubes were of about 20 ccm capacity and contained either 5 ccm or 10 ccm of the slanted agar. All were inoculated and then some were closed with sealing-wax and others were left unsealed: all were incubated at 20°.

All showed growth in one day, abundant growth in 5 days, the growth in the tubes not sealed being only a little more abundant than in the sealed tubes.

The tubes not sealed all became pigmented and those with lactose 1, 5 and 10 per cent. passed through the deep blue pigmentation and were wine or rust color in 36 days.

The sealed cultures developed no pigment at all as long as they remained sealed. Cultures 5 and 10 per cent. were unsealed after 6 days and soon developed a rich pigment. Cultures 1 and 10 per cent. were unsealed after 34 days and in 24 hours developed a strong blue pigment, but the period of pigmentation was much shorter than in tubes not sealed. When, after 34 days, 1 and 10 per cent. were unsealed, cultures were made and both found to be alive.

Two tubes of agar with 1 per cent. lactose, not sealed, were bright blue to Prussian blue in 3 days. One of them was then sealed and in 3 days more at 20° C the agar was completely decolorized and on softening the wax in the flame, there was a strong inward pressure drawing the plug into the tube. The other tube of agar with 1 per cent. lactose was not sealed at all and remained pigmented for 18 days or more.

With a limited supply of oxygen, the organism grew well and consumed oxygen in its growth but did not produce pigment. If a pigmented culture of the organism was limited as to oxygen, it soon consumed the pigment already formed and produced no more. This indicated that chemically the pigment body was rich in oxygen.

Oxygen requirements for pigmentation. If two tubes of liquid media favorable for pigment formation be inoculated and put at a favorable temperature and if one tube be inclined in an almost horizontal position so as to give a large surface exposed to air, and if the other be kept upright, then the inclined tube will develop a rich pigment throughout and the upright tube less pigment, mainly limited to a surface zone.

There is no growth in the closed arm of the fermentation tubes, see experiments under gas formation.

Gas production. Beef peptone bouillon modified with 5 per cent. sucrose, maltose, and lactose was sterilized in fermentation tubes; inoculated; and incubated at 25° to 27° C. The three tubes of sucrose bouillon became turbid but in the open arm in 24 hours. This turbidity increased and a white ropy sediment formed. The liquid in the connecting tube became turbid but in the closed arm it remained clear. In the maltose bouillon the growth was in the sucrose bouillon and no gas appeared in either in 20 days.

In the lactose bouillon there was more growth than in the others but no gas formed even in 35 days. The growth was confined to the open arm and to the connecting tube and was sharply separated from the clear liquid in the closed arm. The growth soon became so slimy as to draw out in long threads and then thickened to a mucus-like mass. Color appeared in 5 or 6 days and the liquid in the open arm passed through the deep blue pigmentation. In 20 days the blue was replaced by ochre-yellow except at the surface and in 35 days it was wholly destroyed and changed to a rust-color which diffused upward into the clear liquid.

Beside these cultures in fermentation tubes cultures were made in liquid media and stab cultures in gelatines and agars with various carbohydrates as described elsewhere, but gas formation was never observed in cultures of this organism.

Effect of carbohydrates of different concentrations on growth and pigmentation. Beef peptone agar, 3° acid to phenolphthalein, was modified by adding various amounts of carbohydrates as given in the table below. All the media was sterilized by the discontinuous method at 100° C. The alcohol was sterilized in a pipette and added to the melted and sterilized agar.

Carbohydrate	Percentage of carbohydrate added
Alcohol	$\frac{1}{10}$ , 1, 2, 4
Glycerine	1, 10, 20, 30
Mannite	1, 10, 20, 30
Maltose	1, 10, 20, 30
Galactose	1, 10, 20, 30
Dextrose	1, 10, 20, 30
Lactose	1, 10, 20, 30
Sucrose	1, 10, 20, 30
Dextrin	1, 10, 20, 30
Starch	1, 10
Levulose	2 drops to 10 ccm
Gum tragacanth	a small amount.

The tubes were inclined and were inoculated by drawing a needle dipped in a bouillon culture over the inclined surface of the agar. The cultures were incubated at 19—22° C, the temperature being 20° C most of the time. All the cultures were under observation for 22 days and some of them for 50 days or longer.

It was found that the greater the per cent. of carbohydrates in the medium, the longer was the growth period. Thus, on agar without the addition of any carbohydrate the growth increased measurably for only 6 days; with 10 perc. of the various carbohydrates the growth increased for 8 to 10 days; with 20 per cent., for 12 to 16 days; and with 30 per cent., for 16 days. The period of active growth was actually somewhat longer, it ended when the band of growth, previously raised, showed a flattened appearance due to evaporation of water from the mucilaginous surface. The amount of growth was determined by measuring across the middle of the band of growth and was approximately as follows: normal growth, or growth on the agar without carbohydrates, 5 mm; restrained growth, 3 mm; increased growth, 6 to 10 mm, in most cases 10 mm.

(See Table p. 532.)

The faint blue pigmentation developed in all except those marked deep blue pigmentation, and the following which produced no colore-maltose 20 per cent., galactose 20 per cent. and 30 per cent., alcohol and plain agar.

With the exception of alcohol all of the carbohydrates mentioned in the table favored pigment production. The period of pigmentation and the amount of pigment produced varied with the kind and concentration of the carbohydrates. Most of the cultures showed pigment in 24 to 48 hours, concentrations of 20 per cent. and 30 per cent. were but little slower than 1 per cent. and 10 per cent. A few cultures required more than 2 days

**Effect of carbohydrates of different concentrations on growth and pigmentation.**

Carbohydrate	In tubes containing various percentages of carbohydrates					Deep blue pigmentation
	Amount of growth was			Rapidity of growth was		
	Increased	Normal	Restrained	Hastened from first	Retarded at first	
No carbohydrate	normal	normal	normal	normal	normal	none
Alcohol		$\frac{1}{10}$ , 1, 2, 4				
Glycerine	1, 10, 20		30	1	10, 20, 30	
Mannite	1, 10		20, 30	1, 10	20, 30	1, 10, 20
Maltose	10, 1		20	1, 10	20	1
Galactose	1, 10	20	30	1, 10	20, 30	1
Dextrose	1, 10		20, 30	1, 10	20, 30	1
Lactose	1, 10, 20	30		1, 10	20, 30	all
Sucrose	1, 10, 20	30		1, 10, 20		all
Dextrin	1, 10, 20, 30			1, 10, 20	30*)	all
Starch	1, 10			1, 10		1, 10
Levulose 2 drops to 10 ccm	increased			hastened		+
Gum tragacanth % not known	increased			hastened		

\*) (See special pigmentation of Dextrin.)

to show pigment, thus mannite 20 per cent. took 3 days, 30 per cent. took 6 days; maltose 10 per cent. took 4 days, 20 per cent. did not develop pigment and with 30 per cent. there was no growth; galactose 20 per cent. and 30 per cent. developed no pigment; starch 10 per cent. took 3 days but 10 per cent. only 1 day; with glycerine pigmentation was delayed and weak, strongest in 10 per cent., though glycerine gave rich pigment in other media. With no carbohydrates added to the agar, there was no pigment formed or at most a faint green-blue discoloration.

The pigmentation reached its maximum intensity in 4 or 5 days from the time of inoculation and continued with little change for a period of from 4 to 18 days, in most cases about 12 days. The color then changed gradually and diminished or disappeared, first in those which were least pigmented and later from all. In strongly pigmented media considerable pigment remained after 48 days or longer. These remarks refer to the blue-green and red colors only, as these disappeared ochre or rust color developed and remained.

The deep blue pigmentation. In the deep blue pigmentation a bright blue appeared usually within 1 or 2 days and diffused into the agar beneath the most vigorous growth. It increased rapidly and darkened to Prussian blue, reached its maximum intensity at 20° C in 4 or 5 days and colored all of the medium. This color continued 4 to 18 days, usually 12 days, and gradually a wine color (*Saccardo, vinosus*) appeared in the blue agar. This wine color was most evident by transmitted light and was most intense beneath the band of growth. The medium, up to this time transparent, now became darker and opaque, and green-blue with lead color gradually replaced the blue, while the wine color remained. These colors then either gradually disappeared and were replaced by ochre or they remained for 50 days or more. From the surface of the water of condensation downward, the pigmentation was in general like that in the agar of the slope, as above described, but the changes were more rapid. The colors were

replaced by amber which darkened to ochre and rust color. The growth itself was less intensely pigmented than the agar, into which the pigment readily diffused.

The faint blue pigmentation. This was like the deep-blue but was less intense. At first the color was blue-gray, then pale blue, blue-green and lead color with a wine tint by transmitted light. These colors faded out through the violet and lilac and were replaced by amber or ochre-yellow. At 25° C to 27° C the colors were as above described but the changes were more rapid and the period of pigmentation was shortened.

Saccardo's Chromotaxia Seu Nomenclatur Colorum, Patavii, 1894, was used as a color scale, the following colors were observed: 29, Ochre-yellow; 30, Amber-coloured; 31, Rusty; 33, Yellow-green; 36, Smaragdine; 37, Verdigris; 40, Prussian blue; 41, Azure, bright blue; 42, Pale blue; 43, Eye-blue, eye-grey; 44, Lead-coloured; 46, Dark violet; 47, Violet; 48, Lilac; 49, Livid; 50, Vinous.

The action of chemicals on the pigment. The pigment was extracted from agar cultures in 50 per cent. alcohol and the solution was bright blue and wine color. The wine color was best seen by transmitted light and at some angles the solution was violet. On adding an equal volume of 95 per cent. alcohol, the pigment was precipitated from its solution with 50 per cent. alcohol and the filtrate had a faint wine tint only.

When an alcoholic solution was shaken with chloroform and allowed to stand, the color was all in the alcoholic layer.

The pigments from agar cultures were soluble in cold water, and when the solution was shaken with ether, benzine or chloroform and the mixture allowed to settle, the pigment was all in the water layer, nor did these chemicals take up color when poured over pigmented agars.

Chemicals had the same action on the pigments whether they were dissolved in alcohol or water or diffused in agar or gelatine. The color changes produced by acids and alkalis were best observed by removing a piece of agar, which, contained colonies rich in pigment granules, from a plate culture to a glass slide, and then either placing this upon a sheet of white paper or else on the stage of the microscope and observing with a low power. In all cases, the changes in color were compared with the colors given in Saccardo's chart.

Concentrated acids. HCL, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and HNO<sub>3</sub>, rapidly changed the color from bright blue through violet, livid and dark violet to vinous. The changes progressed from the surface inward and in the same way faded through lilac and disappeared. Decinormal and dilute acids caused the same changes but more slowly and with less intensity, so also did the organic acids-formic, acetic, butyric, lactic, oxalic, malic, and citric.

Alkalis, as normal NaOH, KOH, Ca(OH)<sub>2</sub>, Ba(OH)<sub>2</sub>, and Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, rapidly changed the original blue color to green-blue. With the first two reagents the pigment grains dissolved with an intense vinous color which changed rapidly to green-blue. The color then faded through blue-green to emerald green and then disappeared. Decinormal and weak alkalis produced these changes more slowly.

Before the green-blue color faded it could be changed to vinous by adding an excess of acid and the vinous to green-blue again by an ex-

cess of alkali, or the piece of agar might have different colors in concentric zones.

Magnesium sulphate changed the blue of the agar to intense violet.

All the changes were rapid, occupying only a few minutes. The colors were transparent and the bits of agar glowed with color like gems — sapphire, amethyst, or emerald, according to the reagent employed.

The nature of the slime. A culture was made on the surface of sucrose-peptone-agar in a large glass chamber. In a few days the whole mass of the medium was colored dark blue and the surface was covered with a layer of mucus-like growth.

The slimy growth was strained off and to 50 ccm of it was added 50 ccm of 95 per cent. alcohol. Part of the pigment went into solution and this blue and wine colored solution was used in studying the nature of the pigment. Most of the slime separated and collected above the colored liquid, it was removed, shaken with excess of alcohol, and thrown down by means of the centrifuge. So prepared, the gum was a fibrous, pasty, but not viscous mass, which dissolved readily in cold water the solution drawing out in threads as before. After heating the solution with dilute acid it reduced Fehling's solution.

Slimy cultures on agars, in milk, in bouillon and in Dunham's solution all lost their faculty of drawing out in threads if the cultures were boiled for a minute or two. A temperature lower than 98° C did not accomplish this. Strong alcohol precipitated the gum from boiled solutions and on redissolving the precipitated gum in cold water, the solution could be drawn out in threads.

Soluble invertase. Invertase was produced in media without sugar. Cultures in bouillon and Dunham's solution were used in this test.

20 g of sucrose were dissolved in distilled water, 1 ccm of creosote was added and the volume made up to 30 ccm by adding distilled water. To each tube containing about 10 ccm of culture there was added 3 ccm of the cold agar solution. Thus each culture contained about 20 per cent. of sucrose and each received  $\frac{1}{10}$  ccm of creosote. Each tube was shaken and a small amount was poured into an evaporating dish and boiled with a few drops of Fehling's solution; there was no reduction. All the tubes were then placed upright in a water bath, kept at a temperature of 52.5° C during the first five hours, then 51.5° C during the next half hour, after which the flame was removed and the bath cooled gradually over night.

After 2 hours and 10 minutes at 53° C, the tubes were all tested and showed no perceptible reduction with Fehling's solution. All were again tested after 4 hours or more and again on the following day, with the results shown in the table.

(See Table I. p. 535.)

Cultures 1, 4, 5, 7 and 8 were pigmented and slimy at the time of the test. All were turbid, more or less viscid, and with a ropy sediment. The contents of tube 8 were boiled just before placing the tubes in the water bath.

(See Table II. p. 535.)

The reaction in sucrose agar culture — 13° was acid in the agar of the slope, that is in the vicinity of growth, but was alkaline in the deepest part of the same tube.



## I. Soluble invertase.

Tube	Culture medium	Incubated		Fehling's solution reduced after
		days	at	
1	Neut. bouillon	28	20° C	+ 5 h. 7 min.
2	Bouillon acid 4°	42	20° "	—
3	Peptone in 1 perc. tap water	16	20° "	—
4	" 1 perc.	19	20° "	—
5	" 1 " , NaCl 2 perc.	19	20° "	—
6	" 1 " , NaCl 2 perc.	17	20° "	—
7	" 1 "	10	20° "	+ 4 h. 17 min.
8	" 1 "	10	20° "	—
9	" 1 "	10	20° "	+ 5 h. 17 min.
10	" 1 "	6	25—27° C	+ 4 " 27 " boiled control

## II. Inversion of sucrose in alkaline agars after 6 days' growth at 20° C.

Medium and alkalinity	Inoculated	Reaction after 6 days	Reaction Fehling's solution
Agar — 2°	+	—	—
Sucrose agar — 2°	—	—	—
" " — 2°	+	+	+
Agar — 8°	+	+	—
Sucrose agar — 8°	—	—	—
" " — 8°	+	+	+
" " — 13°	—	—	—
" " — 13°	+	±	+

Alkaline sucrose agars were inoculated and the sucrose was inverted but the medium beneath the active growth was found to have become acid by the time the inversion was observed and it is probable that the invertase acted only in an acid medium. Uninoculated controls showed no inversion and remained alkaline.

The effect of dessication. Two agar cultures grown at 18° to 22° C were used. One was two days old, the other 45 days old. A coverglass was held in flamed forceps and flamed. When it was cool a 2 mm loopful of the slimy culture was spread on it and it was then put in a sterile Petri dish. In this way a number of coverglasses were prepared from each culture and the two dishes were kept at 18° to 22° C.

At intervals of a few days, one of the coverglasses from each lot was dropped into a tube of Dunham's solution. If, on incubation, the medium became turbid and slimy with a ropy sediment and a green-blue color, the dessicated culture was said to be alive. If the medium remained clear, the culture was said to be dead. The trials were too few and far between and the limits were not accurately determined.

The culture which was two days old was alive after dessication for 7, 13, 36 and 38 days, but dead on one coverglass after 32 days.

The culture which was 45 days old was alive after 4, 7 and 13 days and dead after 32 and 38 days of dessication.

Growth at low temperatures. Cultures were made on lactose agar and in lactose and sucrose bouillon and placed in or coldstorage building.

The highest observed temperature was 1,6° C and the lowest — 1° C.

The temperature was about  $1,5^{\circ}\text{C}$  most of the time. In 24 hours there was slight growth, in 2 days there was little growth on agar and on agar containing 1 per cent. and 20 per cent. sucrose, no growth on agar with  $\frac{1}{10}$  per cent. 5 per cent. or 25 per cent. sucrose. After 6 days there was growth on all except the 25 per cent. lactose agar, which at the low temperature was more than saturated with lactose so that crystals formed. In 13 days the growth had increased, but was thin and retarded compared with growth in the same media at  $18^{\circ}$  to  $22^{\circ}\text{C}$ . The growth was iridescent by electric light but not in daylight. No pigment appeared in 6 days. In 13 days 10 per cent. lactose agar was light blue almost throughout, 1 per cent. and 5 per cent. were light blue in the upper half of the inclined agar,  $\frac{1}{10}$  per cent. showed a greenish tint and 20 per cent., 2 per cent. and agar without lactose showed no pigment. After 13 days the cultures were put at  $18^{\circ}$  to  $22^{\circ}\text{C}$  and in 18 hours 1 per cent. and 5 per cent. became Prussian blue throughout and later all the lactose agar tubes showed pigment.

**Conclusions.** On agar with lactose, growth and pigmentation were retarded by low temperatures, but not prevented even by temperatures near freezing. At low temperatures lactose 20 per cent. or more restrained growth and prevented pigmentation.

**Growth at high temperature.** The organism did not grow in milk at  $38,2^{\circ}\text{C}$  nor in synthetic media at  $39^{\circ}\text{C}$ .

**Thermal death point.** The medium used was peptone 1 per cent. in tap water and each test tube of thin walled glass contained 10 ccm of the clear sterile medium.

Tubes were selected which would float upright in the water bath, the water being as high as to the bottom of the cotton plugs. The bath contained 8 litres of water and a thermometer with its stem passing through a cork floated upright in the water and reached half way to the bottom. The bath was heated by a gas flame below and the tubes were left in the water long enough to acquire the correct temperature before they were inoculated.

The tubes were inoculated from a culture in Dunham's solution + 10 per cents. dextrin which had been incubated 3 days at  $25^{\circ}$  to  $27^{\circ}\text{C}$ . It had become viscid and pigmented.

The tubes were inoculated without raising them from the bath, each tube receiving three 2 mm loopfuls of the culture. Two tubes were exposed at each temperature and for each period. During the exposure the temperature did not rise above those recorded nor fall more than  $0,5^{\circ}\text{C}$ . At the end of the exposure the tubes were plunged in cold running water and when they were cool they were incubated at  $25^{\circ}$  to  $27^{\circ}\text{C}$ .

Control tubes were inoculated, but not heated and these, together with some of the heated tubes, became turbid in 24 hours, others after a few days. In 24 hours some tubes were clear and others turbid and viscid with aropy white sediment and a greenish pigment.

Exposure 10 minutes

$53^{\circ}\text{C}$	alive	$60^{\circ}\text{C}$	dead
$53^{\circ}$	„ dead	$65^{\circ}$	„ dead
$60^{\circ}$	„ alive	$65^{\circ}$	„ dead

At least one out of the two cultures was killed at each temperature and for each period. Both cultures were killed by an exposure for 10 minutes at  $65^{\circ}\text{C}$ .

**Effect of sunlight.** About 20 ccm of melted sucrose agar was inoculated with three large loopfuls from a blue slimy culture 5 days old. The inoculated agar was poured into 4 small Petri dishes and allowed to set and a strip of pasteboard about 25 mm wide and 1 mm thick was then pasted across the bottom of each dish.

The lower half of a large glass moist-chamber was floated on broken ice and water contained in the upper half of the dish. The plate cultures, prepared as above, were now placed, bottom up, in the floating dish and the whole was exposed to the unclouded sun at 1:24 p. m. July 22nd, latitude 43,30. One dish was removed after 20 minutes and the others in the order indicated in the table. All were then incubated at 18° to 22° C.

There were no colonies visible in 24 hours, but in 48 hours there were colonies in all the plates. The deep green pigmentation took place in all the plates and the numbers of colonies and the pigmentation were proportionate to the numbers of bacteria surviving in each exposed plate, and this resulted in darkly pigmented bands in the plates conforming to the strips of pasteboard, especially marked in the plates exposed 40, 60 and 100 minutes respectively. The number of colonies even under the protecting strips decreased with the longer exposure, probably because of light reflected from below. Colonies "numerous" means several thousand per field of the microscope, Leitz, Oc. 2, Obj. 3.

#### Exposure to Sunlight.

Exposure in minutes	Colonies in protected part	Colonies in exposed part
20	Numerous	a little less numerous
40	"	decidedly less numerous
60	" decreasing	none
100	" "	none

**Conclusion.** Most of the cells are killed by an exposure to sunlight of 40 minutes and all are killed in 60 minutes,

#### Viability in various media at different temperatures.

Medium	Room temperature		18—22° C	25—27° C
	Alive after days	Dead after days	Alive after days	Alive after days
Lactose gelatin	65, 75 & 85			
Plain gelatin		146		
Lactose agar	102, 112			
Plain agar		144	45	45, 55
Milk		113	19	
Bouillon			41, 67	45
Sucrose agar 1 per cent.			49, 58, 83	
Bouillon sucrose 50 per cent.				25
Sucrose agar 20 per cent.		79		55

**Effect of decinormal sodium hydrate on growth and pigmentation.** Decinormal sodium hydrate was added to tubes of melted sucrose agar after sterilization in quantities indicated by alkalinities, —10°, —20°, —40°. The tubes were inclined, inoculated and incubated at 13° to 22° C.

There was good growth in all the tubes, though —20° was at first

a little retarded. All became richly pigmented. The maximum of pigmentation was delayed in  $-20^{\circ}$ , but the period of rich pigmentation was lengthened and the amount of pigment was increased in proportion as the alkalinity increased; this,  $-4^{\circ}$  sucrose agar was richly pigmented for 9 days,  $-10^{\circ}$  for 13 days and  $-20^{\circ}$  for 35 days.

Effect of sodium chloride. To 1 per cent. of peptone in tap water was added NaCl 0 per cent., 1 per cent., 2 per cent., 3 per cent., 4 per cent., 5 per cent., and the tubes were sterilized in steam on three successive days, inoculated and incubated at  $25^{\circ}$  to  $27^{\circ}$  C.

In 4 days there was growth and all were nearly equally turbid with a ropy sediment. In 9 days and in 15 days the tubes were shaken until the slimy sediment diffused and the culture with no NaCl was so slimy as to draw out in threads. None of the others were so slimy.

Some green-blue pigment appeared in the cultures 0 per cent., 1 per cent., 2 per cent. and 3 per cent. in 9 days and in 4 per cent. in 15 days, none in the 5 per cent. in 20 days.

The series was continued in the same manner with NaCl 6 per cent., 7 per cent., 8 per cent., 9 per cent. and 10 per cent. In 3 days there was growth in 6 per cent. and 7 per cent., in 9 days there was growth in 8 per cent. but after 14 days there was no growth in 9 per cent. nor in 10 per cent. There was no pigmentation in these cultures. The turbidity and the ropy sediment were less as the salt increased and with 8 per cent. there was no turbidity, only a little ropy sediment.

Conclusion. 1 per cent. or more of NaCl was unfavorable to growth and pigmentation, 8 per cent. greatly restrained growth and 9 per cent. or more prevented growth.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Erreger des Fadenziehens beim Brote.

### I. Mitteilung: *Bacterium panis*, ein neuer Erreger des Fadenziehens beim Brote.

Von Dr. Franz Fuhrmann,

Privatdozenten an der Technischen Hochschule zu Graz.

[Aus dem botanischen Institut der Technischen Hochschule in Graz;  
Vorstand: Professor Friedrich Reinitzer.]

Mit 1 Tafel und 1 Kurve.

(Schluß.)

### Infektionsversuche an Brot und Mehluntersuchungen.

Es wurden nun Infektionsversuche an Brot mit frischen Kulturen und Sporen von älteren Kartoffelkulturen gemacht, indem ich etwas von der Bakterien- oder Sporenaufschwemmung unter den nötigen Vorsichtsmaßregeln der Krume einverleibte. Sämtliche in dieser Richtung unternommenen Versuche ergaben positive Resultate, indem nach 24 bis 48 Stunden die betreffenden, bei  $30^{\circ}$  C gehaltenen Brote in charakteristischer Weise fadenziehend wurden, ohne daß eine Veränderung in der Farbe der Krume festzustellen war.

Es galt nun die Infektionsquelle des ursprünglichen Brotes festzustellen. Zu diesem Zwecke untersuchte ich das verwendete Mehl, die Preßhefe und den Kümmel auf das Vorhandensein

von *Bacterium panis*. Erwähnen will ich gleich, daß weder das Korn- noch das Weizenmehl Merkmale des Verdorben-seins zeigten, gut und trocken gelagert waren und keinen dumpfen oder moderigen Geruch besaßen.

Es wurden nun von den genannten Substanzen Gelatine- und Agarplatten gegossen. Von den Mehlen wurde zu dem Ende eine Messerspitze voll in steriler Nährbouillon aufgeschwemmt, sehr gut durchgeschüttelt, dann absitzen gelassen und mit der darüberstehenden Flüssigkeit eine Reihe von Agar- und Gelatineplatten angelegt. Nur auf den mit Kornmehl infizierten Platten zeigten sich schon nach 16 Stunden eine beträchtliche Anzahl von Kolonien, die für *Bacterium panis* typisch sind. Auf allen anderen mit Weizenmehl, Kümmel oder Preßhefe beschickten Platten waren keine derartigen Kolonien auffindbar. Es stimmen diese Ergebnisse mit den von Juckenack (l. c.) und Thomann (l. c.) gemachten Befunden überein, die ebenfalls das verwendete Mehl als Infektionsquelle nachwiesen. Der zuletzt genannte Autor konnte auch nur im Kornmehl seinen Erreger des Fadenziehens finden, während die von ihm untersuchten Proben reinen Weizenmehles davon frei waren.

Daß unser Bakterium zumindest in seinen Dauerformen die Backhitze gut übersteht, geht daraus hervor, daß alle von dem untersuchten Mehl gebackenen Brote in kurzer Zeit fadenziehend wurden.

Alle bisher aus fadenziehenden Broten isolierten Bakterien zeigen untereinander große Aehnlichkeit, unterscheiden sich aber doch durch gewisse Merkmale, die als konstant gelten können, weshalb es nicht an-gehen würde, etwa von Varietäten einer einzigen Species zu sprechen. Man würde vielleicht gut tun, alle Erreger des Fadenziehens in Backwerken in einer Familie zu vereinigen, deren Gliedern als gemeinsames Merkmal die Fähigkeit zukommt, endogene, mehr oder weniger widerstandsfähige Sporen zu bilden und Brot fadenziehend zu machen. Ich bin überzeugt, daß letztere Eigenschaft gewiß noch einer großen Anzahl von Spaltpilzen eigen ist; doch in dem Sinne möchte ich die Zusammengehörigkeit aller solcher Bakterien in einer Familie nicht verstanden wissen. Es wären dazu nur jene Mikroorganismen zu rechnen, die spontan nach Ueberstehen der Backhitze die in Rede stehende Brotkrankheit hervorzubringen vermögen. Es ist nur schade, daß von Vogel keine nähere Beschreibung jener 9 Kartoffelbacillenstämme vorliegt, die von den untersuchten Arten Brot fadenziehend machten. Es würden uns diesbezügliche Daten gewiß erwünschte Aufschlüsse über eine eventuelle Variabilität der einen oder anderen hierher zu rechnenden Bakterienart gegeben haben.

In Tabelle III habe ich eine Zusammenstellung der morphologischen und biologischen Eigentümlichkeiten der genauer beschriebenen Erreger des Fadenziehens beim Brote versucht, aus der man ohne weiteres die nahe Verwandtschaft dieser Bakterien ersehen kann. Als gemeinsame Merkmale außer der Erregung des Fadenziehens können gelten: Eine mehr oder minder energische Peptonisierung der Gelatine, die Bildung sehr resistenter endogener Sporen, die Färbbarkeit nach Gram und die Ausfällung des Kaseins aus Milch. Das Merkmal der Eigenbewegung

Tabelle

Name der Bakterienart und Synonyme	<i>Bacillus mesentericus</i> (Flügge) Mig. = <i>B. mesentericus fuscus</i> Flügge	<i>Bacillus vulgatus</i> (Flügge) Mig. = <i>Bacillus mesentericus vulgatus</i> (vulgaris) Flügge	<i>Bacterium mesentericum</i> = <i>Bacillus mesentericus panis viscosi</i> I Vogel
Wurde in fadenziehend. Brot beobachtet von	Juckenack (l. c.)	Kretschmer u. Niem-slowicz (l. c.), Uffelmann (l. c.), Lehmann <sup>1)</sup>	Vogel (l. c.), v. Czadek u. Kornauth (l. c.)
Größe und Form der Stäbchen	0,8—2,4 $\mu$ lang, 0,7—0,9 $\mu$ breit, mit abgerundeten Enden	1,6—5 $\mu$ lang, 0,8 $\mu$ breit. Enden nur schwach abgerundet	3—5 $\mu$ lang, plump, an den Enden abgerundet
Beweglichk.	Gut beweglich	Beweglich	Unbeweglich
Färbbarkeit nach Gram	Färbbar	Färbbar	Färbbar
Sporenbildung	Rundliche, in der Zelle regellos verteilte endogene Sporen	Große elliptische Sporen	Ovale, mehr i. d. Zellmitte liegende glänzende Sporen
Resistenz der Sporen		Mehrständiges Kochen soll sie mitunter nicht töten	Nach 1 Stunde im strömend. Dampf b. 100° C noch lebensf.
Gelatineplatte	Rundliche, grau-weiße Kolonien mit flachem Verflüssigungstrichter	Kolonien verflüss. d. Gelatine unt. Bild. ein. zarten, gefältelt. u. festen Häutchen auf der verflüss. Masse	Flach. Verfl.-Tricht. m. grau-weiß. Zentr. u. häutchenart. a. d. Oberfl. d. Gelat. lieg. äußeren Parteen
Gelatine-stichkultur	Zuerst schalenförmige Einsenk., dann rasche sackförm. Verflüssigung unt. Bildung eines grau-weißen Deckhäutchens	Zuerst grau-weiße, glänzende Auflagerung, dann strumpfförm. Verflüss. m. derben Häutchen an der Oberfläche	Langsame, strumpfförmige Verflüssigung
Agarplatte	Dünne, rundl., durchscheinende, graue Auflager. m. verdickt. weißl. Zentrum	Glattrandige, zieml. dicke, weiß-graue Auflagerungen	Grau-braune, grobkörn. Kol. m. gewundenen u. zart. Ausl. i. d. umg. Nährböd.
Agarstrichkultur	Feuchtglänz., gelbbraun b. grau gefärbter, welliger Belag	Ueppiger, welliger, gelappt. Belag mit unregelmäßigen Falten	Blau-grauer, durchscheinender Belag
Bouillonkultur	Mäßige Trübung m. Hautbildung an der Oberfläche	Schwache Trübung. Festes grau-weißes Häutchen	Gutes Wachstum
Kartoffelscheibenkultur	Anfangs flache, glänzende, grau-gelbliche Auflager., später unregelmäß. Maschenwerk v. gelb-grauer Farbe u. matt. Aussehen	Darmschlingenähnl. Belag von weißlich-grauer, gelblicher od. rosa-bräunlicher Farbe. Manchmal ist derselbe schleimig	Anfängl. weiß, dann grau verfärbt; mehr schmierig. Spät. parallel verlauf., oft seidenglänz. Falten
Milchkultur	Ausfällung des Kaseins	Schleimig geronnen, später Lösung der Koagula	Ausfäll. d. Kaseins u. nachh. Lös. desselb.
Anaerobes u. aerobes Wachstum	Schlechtes Wachstum bei Sauerstoffabschluß	Schlechtes Wachstum bei Sauerstoffabschluß	Streng aerob
Temperatur-optimum			35—37° C
Erscheinung bei der Brotzersetzung	Krume m. zahlr., bräunl. Pünktch. durchsetzt. Dabei ekelereg. aromat. Geruch. Reaktion d. viskösen Parteen schwach sauer	Krume in eine klebrige, fadenziehende Masse von bräunlicher Farbe verwandelt. Dabei eigenartig. Geruch	Zersetz. d. Brotkrume unt. Bild. eines unangenehmen, widerlichen Ger. Krume stark fadenziehend

Anmerkung: Die vorliegende Zusammenstellung wurde teils auf Grund der Originalmanns und Neumanns bakteriologischer Diagnostik und in Flügges Handbuch genauer morphologischer Merkmale, andererseits wegen seiner großen Ähnlichkeit mit l. c.) in diese Tabelle nicht aufgenommen. 1) Grundriß der Bakteriologie. 1896.

## III.

Bacillus panis (Vogel) Mig. = Bacillus mesentericus panis viscosi II Vogel	Bacillus liodermos Flügge = Gummibacillus Löffler	Bacterium panis Fuhrmann
Vogel (l. c.), Thomann (l. c.)	Uffelmann (l. c.)	
4—7 $\mu$ lang, schlank	2—5 $\mu$ lang, 0,8 $\mu$ breit	2—4 $\mu$ lang, 1—1,2 $\mu$ breit, abgerundete Enden
Lebhaft beweglich Färbbar	Beweglich	Nicht beweglich Färbbar
Ovale, hellglänzende Sporen	Endogene Sporen	Ovale endogene, in der Zellmitte liegende Sporen
Uebersteh. n. eine Einwirk. d. ström. Wasserdampfes bei 100° C von 15 Min.		25 Minuten gegen strömenden Wasserdampf von 100° C
Flacher Verflüssigungstrichter. Ausläufer in die umgebende Gelatine	Weiter Verflüssigungstrichter. Die trübe Flüssigkeit ist von einer grauweißen Haut bedeckt	Seichte, scharf begrenzte Verflüssigungsdellen, von einer schwach getrübbten Flüssigkeit erfüllt. Später zartes Häutchen
Energische, strumpfförmige Verflüssigung		Zuerst flache, breite Verflüssigungsdelle um den Impfstich, dann sackförmige Verflüssigung, zartes Häutchen
Kolonieen mit dunklem Kern und zarten Ausläufern		Entwed. runde, grau-weiße trockene, an den Rändern zarte Auflagerung mit verdickter Mitte, oder schneekristallart. feuchte, glänz. Kolon.
Trockener, grau-weißer Rasen		Weiß-gelb durchschein., wachsartige dünne Auflagerung. Kondenswasser leicht getrübt, zart. Häutchen. darauf
Kräftiges Wachstum		Mäß. Trüb. i. d. oberflächl. Flüssigkeitsschicht., dünn. Deckhäutchen, gelb-weißer Bodensatz
Anfänglich schleimiger, grauer Belag, später grau-weiß und faltig	Gummiähnlicher, durchscheinender Belag, später ähnlich dem d. B. vulgatus. Ueberzug in H <sub>2</sub> O löslich u. daraus d. Alkohol fällbar	Bei 37° C schleimiger, dicker feuchter Belag von gelber bis hellgelbbrauner Farbe, stark fadenziehend, nicht gefaltet
Ausfällung des Kaseins u. nachher. Auflös. desselb. Fakultativ anaërob	Gerinnung	Ausfällung des Kaseins, dann Lösung desselben Streng aërob
40—42° C	(Wächst bei Zimmer- und Bruttemperatur)	37° C
Zersetzung der Krume und Bildung fadenziehender Substanzen	Krume v. braun-rötlichen, klebrigen u. fadenziehenden Massen m. süßlichem Geruche durchsetzt. Reaktion der Massen neutral	Die an den betreff. Stellen durchfeuchtete Krume enthält i. d. Poren weißl. glänz. Knötchen. Geruch angenehm aromatisch. Reakt. sauer. Farbe nicht verändert

nalabhandlungen, teils nach Angaben in Migulas System der Bakterien, in Leher Mikroorganismen vorgenommen. Bacillus panificans wurde einerseits mangels dem Bacillus vulgatus (Flügge) Mig. (vergl. Kretschmer u. Niemsłowicz II. Teil.

kommt der Mehrzahl zu, nur zwei sind unbeweglich, wobei aber bemerkt sei, daß nach der Angabe von Czadek und Kornauth (l. c.) das von Král als *Bacillus mesentericus panis viscosi* I Vogel bezogene Bakterium eigenbeweglich sein soll.

Von größter Bedeutung für die Entscheidung der Fragen, ob es sich im gegebenen Falle um weit differierende Bakterien handelt, sind nach meiner Meinung die Ergebnisse chemisch biologischer Versuche an den in Rede stehenden Spaltpilzen. Das Bedürfnis unserer Bakterien nach hochzusammengesetzten oder einfacheren Stickstoffquellen, nach besonderen Kohlenstoffquellen beim Wachstum, die Fähigkeit, verschiedene Enzyme zu bilden und die Bedingungen des Auftretens derselben, alles Merkmale, die mir zu einer genügenden Charakterisierung einer Bakterien-species unbedingt notwendig erscheinen, sind gar nicht näher untersucht. Entsprechende Versuche mit dem *Bacterium panis* sind bereits im Gange und werden auf jene in Tabelle III verzeichneten Bakterien ausgedehnt werden, von denen Kulturen erhältlich sind. Diese Untersuchungen bilden den Inhalt der folgenden Mitteilung.

#### Zusammenfassung.

Die morphologisch-biologischen Untersuchungen über *Bacterium panis* ergaben folgende Resultate:

*Bacterium panis* unterscheidet sich von den bisher beschriebenen, aus fadenziehenden Broten isolierten Bakterien durch das Wachstum auf Nähragar, durch seine geringe Neigung zur Hautbildung auf flüssigen oder verflüssigten Nährsubstraten, durch die nur eben angedeutete Faltenbildung auf festen Nährböden und durch die von demselben hervorgerufene Zersetzung der Brotkrume, die dabei keinerlei Verfärbung aufweist.

Es wächst im Brote mit weißlichen, Tautröpfchen ähnlichen, in das Lumen der Krumeporen hineinragenden Kolonien, die stark fadenziehend sind. Die Krume zeigt dabei nur eine stärkere Durchfeuchtung bei angenehmem, fast obstartigem Geruch, ohne selbst fadenziehend zu sein. Sie wird also nicht selbst in eine fadenziehende Masse verwandelt.

Auf neutraler Nährgelatine bildet *Bacterium panis* eine in die verflüssigte Gallerte eingesunkene Kolonie von weißgelber Farbe. Erst spät entsteht auf der verflüssigten, getrübbten Masse ein sehr zartes Häutchen.

Die Gelatinestichkultur unseres Bakteriums zeigt nur an der Oberfläche Wachstum; nach 12 Stunden bildet sich ein breiter Verflüssigungstrichter, der später eine sackförmige Gestalt annimmt. Die schwach getrübbte und von Bakterien durchwachsene Flüssigkeit ist fadenziehend. Ein sehr zartes Deckhäutchen entsteht erst am 3. oder 4. Tage.

Das Temperaturoptimum für unsere Bakterie liegt um 37° C.

*Bacterium panis* ist stets unbeweglich.

Nach Gram behandelt, wird es gefärbt.

Auf der neutralen Nähragarplatte mit 1 Proz. Agargehalt bei 37° C bildet *Bacterium panis* nach 16 Stunden sternförmige Kolonien, deren Ausläufer auf dem Nährboden liegen. Auf Platten mit 2 Proz. Agargehalt sind die Kolonien rund, scharf begrenzt, außen zart, durchscheinend, in der Mitte etwas ver-



dickt, von weißgelber Farbe und wachsartig matt. Die Stäbchen messen im Mittel  $3\ \mu$  in der Länge und  $1,2\ \mu$  in der Breite.

Die Agarstrichkultur des *Bacterium panis* zeigt längs des Impfstriches einen mäßig dicken, nur minimal gefalteten Belag von grauweißer Farbe, den ein zarter Saum umgibt.

Die 24-stündige, neutrale Bouillonkultur läßt nur in den oberen Partien der Flüssigkeit eine starke Trübung erkennen. Der weißgelbliche Bodensatz ist fadenziehend.

*Bacterium panis* wächst streng aërob.

In Peptonwasser findet nur mäßiges Wachstum bei allgemeiner Trübung der Flüssigkeit statt.

Auf der sterilisierten Kartoffelscheibe wächst unser Bakterium mit einer feuchten, gelbbraunen, dicken und fadenziehenden Auflagerung. Nur beim Austrocknen des Nährbodens werden zarte Falten gebildet. Schon nach 3–4 Tagen findet Sporenbildung statt, worauf dann der Belag ein dunkleres Aussehen bekommt.

Die endogenen Sporen sind oval, annähernd in der Zellmitte gelegen, groß und bauchen die Seitenwand der Zelle ein wenig aus. Sie ertragen, an dünne Seidenfäden angetrocknet, die Einwirkung des strömenden Wasserdampfes von  $100^{\circ}\text{C}$  durch 25 Minuten.

Auf dem Eiweißrand der gekochten Hühnereis Scheibe gezüchtet, wächst *Bacterium panis* mit einer feuchten, gelben Auflagerung. Es findet dabei eine Lösung des Eiweißes statt, ohne daß stinkende Zersetzungsprodukte gebildet werden. Die entstandene Flüssigkeit zeigt die Biuretreaktion.

Auf Scheiben von sterilisiertem Weizenkleber verimpft, erweicht unser Bakterium diesen und verfärbt ihn anfangs nur minimal. Die zersetzten Massen sind nicht fadenziehend.

*Bacterium panis* fällt in Milchkulturen zuerst das Kasein als feinflockigen Niederschlag aus unter geringer Säuerung der Flüssigkeit. Später wird das Kasein langsam gelöst, wobei man eine neutrale oder sehr schwach alkalische Reaktion des Nährbodens beobachtet.

Auf Petruschkys Lackmusmolke ist das Wachstum gering. Die Flüssigkeit wird leicht getrübt, zuerst schwach gesäuert, später schwach alkalisch gemacht.

Stichkulturen in erstarrtem Kleister zeigen nur spärliches Wachstum ohne Verfärbung und mit nur geringer Lösung desselben. Peptonzusatz vermehrt ein wenig das Wachstum.

*Bacterium panis* wächst optimal auf neutraler Bouillon, noch gut bei einem Alkaligehalt desselben von ungefähr 0,3 Proz. Soda, nicht mehr bei 0,5 Proz. Sodagehalt. Geringe Säuremengen hindern schon beträchtlich das Wachstum, ein Gehalt von 0,33 Proz. Essigsäure hebt es auf.

Auf anorganischer Nährlösung mit Asparagin als Stickstoffquelle vermag unser Bakterium nur bei Anwesenheit von Traubenzucker, Rohrzucker, Stärkekleister und Mannit äußerst spärlich zu wachsen. Bei Ammontartrat als N-Quelle findet minimales Wachstum nur bei Zugabe von Rohrzucker oder Stärkekleister statt.

*Bacterium panis* ist für Meerschweinchen bei intraperitonealer Infektion und für weiße Mäuse bei Verfütterung von Kleberkulturen nicht pathogen.

Die Infektionsquelle für das Brot ist im vorliegenden Falle das verwendete Kornmehl, welches *Bacterium panis* in größerer Menge enthielt, während das Weizenmehl davon frei war.

Die Dauerformen unseres Bakteriums ertragen die Backtemperatur ohne Schaden.

#### Tafelerklärung.

Sämtliche Aufnahmen beziehen sich auf *Bacterium panis*.

Fig. 1—5 sind in  $\frac{1}{2}$  natürlicher Größe, Fig. 7 bei 3maliger und Fig. 6 und 8 bei 1000-facher Vergrößerung aufgenommen.

Fig. 1. 24-stündige, beim Temperaturoptimum gewachsene Agarstrichkultur.

Fig. 2, 3 und 4. Stichkulturen in neutraler Nährgelatine bei 24° C nach 12 bzw. 16- und 24-stündigem Wachstum.

Fig. 5. Milchkultur, bei 37° C durch 48 Stunden gezüchtet.

Fig. 6. Nach Gram gefärbtes Ausstrichpräparat von einer 24-stündigen Gelatine-stichkultur.

Fig. 7. Photogramm einer 16-stündigen, bei 37° C gehaltenen Agarplatte.

Fig. 8. Nach Gram tingiertes Ausstrichpräparat von einer taupfropfenähnlichen Kolonie im fadenziehenden Brote.

*Nachdruck verboten.*

## Cytologisches über die Bakterien der Prager Wasserleitung.

[Aus dem zoolog. Institute der böhm. Universität.]

Von Dr. Emanuel Mencl.

Mit 4 Tafeln.

Die vorliegenden Mitteilungen bilden bloß einen Torso einer größeren vorbereiteten Abhandlung über die Struktur und Entwicklungsgeschichte gewisser fadenförmiger Bakterien, die massenhaft in allen Entwicklungsstufen das ganze Jahr durch in dem Moldauwasser vorkommen, und welche, auf gewisse Art und Weise lebendig behandelt, äußerst interessante Strukturverhältnisse zeigen. Ich beschäftigte mich mit diesem Objekte, anschließend an die von Vejdovský und mir bereits in dieser Zeitschrift und noch anderswo mitgeteilten Beobachtungen über den Bau des Bakterienkörpers<sup>1)</sup>. Die Resultate, zu denen ich gekommen, waren recht überraschend, auch sehr interessante, die Entwicklung betreffende Entdeckungen war ich zu konstatieren im stande. Inmitten der Untersuchungen bin ich leider von einer sehr schweren Krankheit befallen worden, die mir ein halbes Jahr weitere Studien ganz unmöglich gemacht hatte und verursachte, daß meine Beobachtungen nicht zum Abschlusse gekommen sind. Es ist weiter sehr unsicher, ob es mir noch einmal möglich sein wird, diesem Gegenstande meine Aufmerksamkeit zu widmen — und das bewegt mich eben zur Veröffentlichung der unbeendeten Beobachtungen. Es liegt in der Absicht dieser Mitteilung, mehr die Aufmerksamkeit anderer zu erregen, als eine abgeschlossene Abhandlung darzubieten.

Eins ist mir ganz klar geworden, daß sich nämlich die Bakterien in ihrer Entwicklung so verhalten, daß eine und dieselbe Art verschiedene Formen auf den einzelnen Entwicklungsstufen anzunehmen

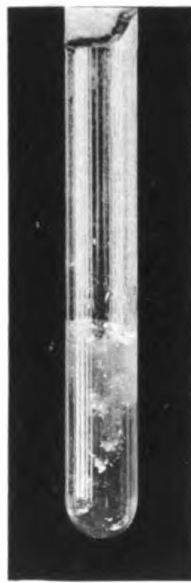
1) Vejdovský, Sitzber. d. kgl. böhm. Gesellsch. d. Wissensch. Prag 1900, 1903. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI, XI.) — Mencl, Sitzber. d. kgl. böhm. Gesellsch. d. Wissensch. 1904. (Diese Zeitschrift. Bd. XII.)



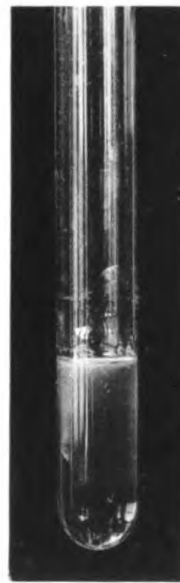
1



2



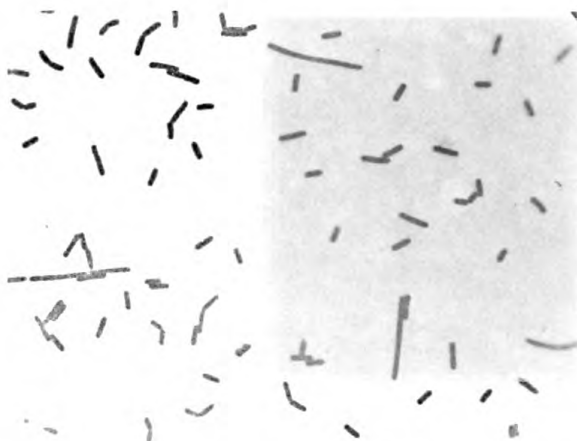
3



4



5



6



7



8

Author photograph.



pfllegt, etwa so, wie es in höchst scharfsinniger Weise und, soweit mir bisher bekannt ist, auch am richtigsten Billet<sup>1)</sup> bei *Cladothrix dichotoma*, *Bacterium Balbianii*, *Bacterium osteophilum* und *Bacterium parasiticum* demonstriert hatte.

Ich war in meinen Beobachtungen ziemlich weit vorgeschritten, als mir die Billetsche Abhandlung zu Gesicht kam — und es ist mir schon früher klar geworden, daß die Entwicklung der Bakterien ziemlich kompliziert verläuft; auch von der Reihenfolge der einzelnen Formen und Stadien habe ich mir eine ziemlich klare Vorstellung machen können. Diese Resultate decken sich in erfreulicher Weise mit den Angaben von Billet. Trotzdem aber beabsichtige ich nicht, in den vorliegenden Bemerkungen auf die Entwicklungsweise der von mir beobachteten Arten näher einzugehen, und zwar aus dem Grunde, weil meine Untersuchungen, gerade in dieser Beziehung jäh unterbrochen, keinen in sich geschlossenen Entwicklungszyklus ergeben und nebstdem hier und da in ihren Details lückenhaft erscheinen. Ich muß mich also auf bloße Beschreibung der beobachteten Tatsachen auf Grund der beiliegenden Abbildungen beschränken, obwohl die Frucht meiner anstrengenden Arbeit auf diese Weise viel ärmer sein wird, als wenn es mir möglich wäre, die Arbeit bis zu dem vom Anfang an beabsichtigten Ziele zu bringen.

Die Methode der Beobachtung war ganz einfach — ich habe mich durchaus einer polychromen Boraxmethylenblaulösung bedient (welcher fast immer noch andere Reagentien, die jedoch nicht alle gleich vorteilhaft erscheinen, beigemischt worden sind), die ich einfach in den auf einem Objektglase sich befindenden und die Bakterien enthaltenden Tropfen (oder manchmal auch in einen hängenden Tropfen) brachte, das Ganze mit einem Deckgläschen bedeckte, um es dann der Untersuchung zu unterwerfen. Die Wasserproben waren in einem Porzellangefäß aufbewahrt, dessen Wände, mit einer schleimigen Schicht überzogen, hier und da hauptsächlich in gewissen Entwicklungsperioden gelblichbraune Bakterien-schollen erblicken ließen. Der schleimige Ueberzug weist außer verschiedenen Algen unendlich zahlreiche Bakterien auf, deren Struktur mit derjenigen der von mir schon früher beschriebenen symbiotischen Bacillenarten wesentlich übereinstimmt und der gerade aus diesem Grunde keine größere Aufmerksamkeit gewidmet wurde. Die erwähnten braunen Schollen enthielten dagegen verschiedene Fadenbakterien, die sehr interessante Verhältnisse zeigten und auf deren Strukturen ich an dieser Stelle die Aufmerksamkeit zu lenken ich die Absicht habe.

Es soll weiter bemerkt werden, daß in den durchsichtigen Glasgefäßen kein so üppiges Wachstum und Vermehrung stattgefunden hat, wie in dem dunkleren Porzellangefäße und daß auch das Vorkommen der Bakterienarten unter beiden Umständen recht verschieden war.

Die Färbung geschah also in vivo und es ist mir manchmal gelungen, sogar den binnen kurzer Zeit sich abspielenden Teilungsprozeß zu beobachten. Dies war hauptsächlich bei den Bakterien Fig. 1, 2 $\alpha$ — $\delta$ , 14 und 25 der Fall. Dagegen habe ich manchmal recht gut beobachten können, wie sich verschiedene Zellkomponenten während einer halben

1) Billet, A., Contribution à l'étude de la morphologie et du développement des bactériacées. (Bulletin scientifique de la France et de la Belgique publié par A. Giard. Série III. T. XXI. 1890.)

bis drei Stunden verschieden zum Farbstoffe verhalten, indem sie sich einmal recht tief tingieren, um dann wieder die Farbe ganz aufzugeben und sozusagen einem anderen Gebilde zu überlassen (z. B. Fig. 7a  $\beta$ , 8, 10a b, 11, 13, 18a b, etc.). Die Erscheinung, daß einzelne Komponenten des Bakterienleibes die verschiedensten Farbtöne von Hellblau bis Schwarzblau einerseits und Rosa bis Dunkelvioletts andererseits anzunehmen pflegen, weist darauf hin, daß die Bakterien nicht nur morphologisch, sondern auch in chemischer Hinsicht recht kompliziert gebaut sind. — Einige Gebilde nehmen die Farbe recht spät an, dann aber gewöhnlich recht stark, und weiter muß erwähnt werden, daß die Dicke der Membranen und Scheiden eine sehr untergeordnete Rolle spielt, was die Tiefe der Färbung und ihre Dauer anbelangt. Meine Versuche, die ich gemacht habe, um auch Dauerpräparate zu erhalten, haben nur wenig Erfolg gehabt und sind überhaupt nicht zum Abschlusse gekommen. Die Methode, die ich in meiner am Anfange zitierten Arbeit angegeben habe, hat mir keine guten Dienste geleistet — ich glaube, daß es nicht die Fixation, sondern eher die Tinktion gewesen, die da fehlgegangen ist. Sonst bin ich überzeugt, daß man zum guten Resultate gelangen müßte, wenn man der Färbung irgend eine Beize vorausschicken würde und daß man auf solchem Wege auf Dauerpräparaten vollkommen übereinstimmende Bilder mit denen, die ich in vivo mittels Methylenblau erhalten habe, finden könnte. Meine diesbezüglichen Versuche haben, obzwar sie nur spärlich und fast primitiv waren, doch auf die Richtigkeit dieser Ansicht schließen lassen.

Es ist bekannt, daß die Ansichten und Angaben der verschiedensten zahlreichen Autoren über die Existenz des Zellkernes ganz entsprechender Gebilde in dem Bakterienleibe von manchen Seiten her recht heftig angegriffen wurden und noch heute manchmal, obzwar seit V e j d o v s k ý s Publikationen nicht mehr so oft, ihre Gegner finden. Diejenigen Gebilde, die man, es sei mit Recht oder Unrecht, als Kernbildungen annahm, suchte man auf verschiedenste Weisen zu erklären.

Das von Fischer<sup>1)</sup>, Migula<sup>2)</sup> u. a. aufgestellte Dogma von der Kernlosigkeit der Bakterienzellen und der daraus resultierenden Angehörigkeit derselben zu den niedersten Organismen und sozusagen das Dogma, die Bakterien seien der Anfang des Lebendigen, hat sich so tief geankert, daß man entweder alle darauf hinweisenden Befunde, daß die Bakterien einen typischen Zellkern besitzen, einfach ignorierte oder für Sporen erklärte oder für Assimilationsprodukte oder aber für was anderes — immer aber sind diese Dogmatiker nicht ganz unparteiisch und suggestionslos geblieben, so daß man manchmal zu den abenteuerlichsten Ansichten gelangte.

Jedoch auch die andere Partei ist manchmal in die schlimmsten Extreme geraten. Das Aergste, was hier geleistet wurde, ist die Ansicht von R ů ž i č k a, nach welcher in den Zoogloen die Bakterien die Kerne vorstellen, und die Schleimsubstanz, in welche sie eingebettet sind, das Protoplasma ist! Dieser Autor hat sogar eine Neubildung oder sagen wir lieber eine Geburt von Bacillen-Kernen gesehen, indem er in dem leeren Gesichtsfelde seines Mikroskops auf einmal das allmähliche Erscheinen von Bacillen beobachtete (wo also nach ihm ex nihilo aliquid fit), natürlich erst, nachdem ein großes Infusorium die Zoogloea und den

1) Jahrb. f. wissensch. Botanik. Bd. XXVII.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1896.

ganzen Tropfen überhaupt durch seine lebhaften Bewegungen etwas „durchgemischt“ hat. Růžička hat also die von Klebs u. a. stammende, meiner Ueberzeugung nach unrichtige Lehre, aber doch in dem Kampfe der Ansichten eine der geistreichsten, die Bakterien seien selbständige Zellkerne, mißhandelt.

Es waren Babes und Ernst, die zahlreiche Anhänger für ihre Ansicht gefunden haben, daß nämlich die nach ihnen genannten Körperchen schon ihrer Tinktionsfähigkeit wegen dem Zellkern entsprechen. Sjöbring hat diese Lehre bekanntlich noch erweitert und modifiziert, und es läßt sich ohne weiteres nicht sagen, daß er den Nagel nicht auf den Kopf getroffen habe. Seine Beobachtungen, obzwar von Babes-Ernstschen Körperchen ausgehend, haben ihn jedoch direkt zum Gegner der letzt-erwähnten Ansicht gemacht.

Die Anhänger der Lehre, die Bakterien seien ganz normal gebaute und kernhaltige Zellen, sind zu zahlreich, als daß man sie, von Arthur Meyer an bis in die neueste Zeit, aufzählen könnte. Zu den entgegengesetzten Ansichten führten also unzulängliche Methoden, manchmal auch falsche Deutung.

Es wird jetzt fast allgemein den Bakterien derselbe Bau zugesprochen, der schon seit langer Zeit für die normale Pflanzen- oder Tierzelle bekannt ist. Während der Zeit haben sich so viele Befunde angehäuft, die für diese Ansicht sprechen, daß man nicht nur unmöglich den Standpunkt von Fischer-Migula verteidigen möchte, sondern auch keine anderen vermittelnden Ansichten, wie z. B. die von Zettnow<sup>1)</sup>, nach welcher der ganze Bakterienkörper, wie er z. B. mittels der in der Bakteriologie üblichsten Tinktionen (Karbolfuchsin) zur Veranschaulichung gelangt, der Kern ist, wobei das minder färbbare Protoplasma unsichtbar bleibt. Diese seine Anschauung modifizierte bekanntlich Zettnow insofern, als er nunmehr annimmt, daß in den Bakterien das Protoplasma mit der Kernsubstanz vermischt ist, wie es sich — wie er meint — auf Grund derjenigen Beobachtungen, die auf vital gefärbten, netzartig strukturierten und einen Zentralkörper besitzenden Spirillen gemacht wurden, ergibt.

Von der ganzen Menge von Autoren, die das Richtigste getroffen, indem sie den Bakterien die Kerne zusprechen, nenne ich Nakanishi<sup>2)</sup>, der in genügend klarer Weise in den von ihm untersuchten Bakterienarten gewisse Gebilde meiner Ueberzeugung nach richtig als Kerne beschreibt, und dabei findet, daß der Teilung dieser Kerne gleich auch die Teilung der Stäbchen folgt und nur selten diese letztere ausbleibt. Dann aber resultieren aus diesen Umständen polynukleäre Stäbchen, wie es z. B. bei der Diphtherie der Fall ist (Nakanishi). Jedoch hat schon 12 Jahre früher Schottelius für gewisse Bakterien und hauptsächlich für den *Bacillus anthracis* einen Kern angenommen, obzwar noch mit gewisser Reserve. Wie schon erwähnt, haben sich in neuerer Zeit auch A. Meyer und Sjöbring gegen die monerenartige Natur der Bakterien direkt ausgesprochen, und neuerdings ist es neben Nakanishi auch Feinberg<sup>3)</sup> gewesen, der in recht überzeugender Weise einen Beweis von der Existenz der Bakterienkerne geführt hat — obzwar ich weit davon entfernt bin, seine späteren Annahmen haupt-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. X. 1891.

2) Münch. med. Wochenschr. 1900; Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX.

3) Anat. Anzeiger. Bd. XVII. 1900. No. 12/14.

sächlich über die Verschiedenheit des Protozoen- und Metazoenkernes zu billigen, in dieser Richtung stimme ich mit diesem Autor vollkommen überein: „... Hiernach ist es wohl berechtigt, den Schluß zu ziehen, daß auch die Bakterien, ebenso wie die Zellen, ein Kerngebilde besitzen, mag man dies Kerngebilde als Chromatin bezeichnen oder ihm einen anderen Namen beilegen.“ Feinberg untersuchte Mikrokokken, pathogene sowie saprophytische Bacillen: *B. subtilis*, *lactis*; *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* (?); Milzbrandbacillus, *B. diphtheriae*, *typhi*, *coli*, *tuberculosis* und den Erreger der Schweineseuche. Ueberall hat er vermittelst der Romanowskischen Färbung gleich tingierte Körper wie die Kerne der Malariaparasiten gefunden und schließt ganz richtig aus diesem Verhalten auf das Vorkommen der Kerne bei den Bakterien. Durch die Untersuchungen von Vejdovský, die ich an einem anderen Materiale zu bestätigen im stande gewesen bin, ist diese Frage meines Erachtens als gelöst zu betrachten, und es handelt sich nunmehr bloß darum, die bei einzelnen Arten vorkommenden Verhältnisse zu ermitteln.

Noch eine Frage ist fast ganz dunkel geblieben. Es ist die Frage von der Entwicklungsgeschichte der Bakterien. Cohn hat bekanntlich die Ansicht von der Unveränderlichkeit der Bakterien ausgesprochen, so daß es ziemlich lange und direkt zum Schaden der Wissenschaft dauerte, ehe man es gewagt, für den Pleo- und Polymorphismus der Bakterien einzutreten. Zopf sagt in seinem vorzüglichen Lehrbuche „Die Spaltpilze“ (Breslau 1883) in dieser Hinsicht ganz richtig: „... Die Cohnsche zusammenfassende Darstellung vom Jahre 1872 entspricht ... so vielen Nutzen sie ihrer Zeit gestiftet, sowohl in Bezug auf die leitende Idee — Konstanz der Spaltpilzformen — und die von ihr beeinflusste systematische Einteilung als auch rücksichtlich vieler morphologischer und physiologischer Einzelheiten naturgemäß nicht mehr dem heute maßgebenden Standpunkte.“ Und an einer anderen Stelle: „Diese Theorie (d. i. die von Cohn) hat nur historischen Wert.“

Mit den Ansichten von Zopf stimmen auch die von Cienkowski, Ray-Lankester, Billroth, Nägeli etc. vollkommen überein. Und trotzdem haben sich die vorzugsweise von Cohn für die einzelnen Formen in die Systematik eingeführten und zugleich als Klassenbenennungen benutzten Termini bis jetzt erhalten — und zwar hauptsächlich in der Medizin. Zopf sagt in dieser Hinsicht, daß „diese Namen (d. i. *Coccus*, *Micrococcus*, *Macrococcus*, *Monas*, *Bacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Spirillen* etc.) zum größten Teil überflüssiger Ballast sind, aber sie werden noch einige Zeit mitgeschleppt werden müssen, da sie in zahlreichen Schriften immer und immer wiederkehren und ihre Kenntnis für das Verständnis letzterer nötig ist“ — und diese Namen werden noch heute in den verschiedensten Abhandlungen wirklich als Ballast und als Klassenbenennungen ganz unrichtig und falsch weiter „mitgeschleppt“.

Bei der Bestimmung der Bakterien werden heute verschiedene Methoden benutzt, z. B. ist das wichtigste Kriterium in dieser Beziehung Kolonienform auf verschiedenen Nährsubstraten — dann Tierversuch, mikrochemische Reaktionen etc., doch aber werden parallel damit die Bakterien auch nach ihrem Exterieur im Ausstriche oder im Schnitte sehr oft beurteilt. Daß dies nicht richtig ist, braucht nicht besonders hervorgehoben zu werden — abgesehen von der außerordentlichen Variabilität während der Involution, besitzen die Bakterien auch unter ver-



schiedensten chemischen und physiologischen Verhältnissen in hohem Maße das Vermögen, ihre Form nicht unbedeutend zu verändern. Diese Tatsachen sind längst bekannt. Die ersten, soweit mir bekannt, auf diesen Gegenstand bezüglichen Beobachtungen sind die von Klein anfangs der 70er Jahre (*Quarterly Journal of Microscop. Science*), und während der Zeit hat eine ganze Reihe von Forschern über diesen Gegenstand recht Vieles und Wichtiges gearbeitet. Es seien hier auch die Angaben über die Bonhoffschen, in Cholerastrühen sowie auch im normalen Darms vorkommenden Spirillen erwähnt. Diese Spirillen nehmen z. B. auf Agarplatten kultiviert, ein stäbchenförmiges Exterieur an, so daß sie dem *Bacillus coli* ganz ähnlich sind (*Arch. f. Hygiene*. Bd. XXVI); oder die Versuche von Hashimoto (*Arch. f. Hygiene*. Bd. XXXI) mit *Bacterium Fraenkeli*, bei welchem er bewegliche Stäbchen, Sarcinen etc. erhielt. Recht interessante und verblüffende Resultate haben Walker und Murray (*Brit. med. Journ.* No. 2270. 1904) beschrieben. Diese Autoren haben den *B. coli*, den Typhus- und Choleraerreger auf Agar, Gelatine und Bouillon kultiviert, und nachdem sie zum Nährboden verschiedene Farbstoffe, wie z. B. Methylviolett, Methylenblau, Fuchsin etc. zugetan, haben sie manchmal Bakterien erhalten, die bis 20fache Länge besaßen, als sonst die normale beträgt, und manchmal frei bewegliche und mit Geißeln ausgerüstete Individuen. Auf einen gewöhnlichen Nährboden überimpft, kehrten sie zu ihrer ursprünglichen Form wieder zurück<sup>1)</sup>.

Wenn man die große hierher gehörende Literatur überblickt, muß man unmittelbar und sicher zu der Ueberzeugung kommen, daß die Bakterien überhaupt und somit auch die pathogenen einerseits große Variabilität besitzen und andererseits auch einen Entwicklungszyklus. Diese Ansicht ist an einigen Stellen des vorzüglichen Handbuches von Kolle und Wassermann ausgesprochen, obwohl nicht immer gleich offen. Es ist nicht unmöglich, daß die verschiedenen Krankheitserreger bloß ein bestimmtes Entwicklungsstadium irgendeiner sonst unschädlichen Mikrobenart sind — womit manches Unklare zu einer ganz plausibeln Sache werden könnte — z. B. das regelmäßige periodische Auftreten mancher Epidemien etc. Es erscheint recht wünschenswert, baldmöglichst ausgedehnte und präzise Untersuchungen hierüber zu unternehmen.

Was nun meine eigenen Untersuchungen anbelangt, so habe ich schon weiter oben gesagt, daß sie mich ebenfalls zu der oben erwähnten Anschauung geführt haben. Da ich aber ohne eigene Schuld verhindert war, meine diesbezüglichen Beobachtungen abzurunden, bin ich genötigt, auf diesen Punkt nur entfernt einzugehen und denselben bloß in dürftigen Anmerkungen zu berühren. Trotzdem habe ich die Absicht, in dieser Richtung weiter vorzudringen, nicht ganz aufgegeben.

Als ich meine Beobachtungen an den verschiedenen Bakterien der Prager Wasserleitung am 22. April 1904 anfang, begegnete ich, wie in den ersten Tagen der Untersuchung, ausschließlich nur Fadenformen, abgesehen natürlich von den verschiedensten anderen, zur näheren Untersuchung fast gänzlich ungeeigneten Arten und Formen.

Die erste durch ihre Zartheit und feine Differenzierung gekenn-

1) Daß die Veränderungen recht tiefgreifend werden können, beweist uns eine Mitteilung von Grassberger (*Arch. f. Hygiene*. Bd. LIII. 1905), nach welcher der Rauschbranderreger mittels verschiedener Kultivations- und Temperaturverhältnisse nicht bloß eine andere Form angenommen hat, sondern auch zum Aëroben wurde.

zeichnete Art ist die in der Fig. 1 abgebildete. Diese Art besitzt eine dicke, zweimal konturierte Scheide, in deren Innerem feine Scheidewände erscheinen, die die einzelnen Zellen abgrenzen. Zwischen je 2 Scheidewänden sehen wir runde oder ovale Protoplasmaklumpchen, die je einen oder zwei dunkel sich färbende Körper enthalten. Diese tiefblau gefärbten Körperchen sind Zellkerne. — In der 1. sowie in der 5. bis 6. Zelle herrscht Ruhe — die 2. zeigt jedoch, daß die Teilung eingetreten ist — der Kern hat sich in 2 Kugeln geteilt. Manchmal kann man eine Verbindung zwischen beiden Kernhälften beobachten, sogar noch dann, wenn dieselben ziemlich weit entfernt sind — wie z. B. in der 2. und 3. Zelle von unten gerechnet. Es muß bemerkt werden, daß sich nicht alle Zellen in einem und demselben Faden gleich rasch und distinkt färben — darum war in der 2. Zelle von oben keine hantelförmige Figur zu sehen.

Die weiteren Stadien lassen sich aus der Abbildung leicht bestimmen, das letzte wäre das in der 4. Zelle von oben, wo die zwei Tochterprotoplasmen schon mit einer recht schmalen Brücke verbunden sind. In der Mitte dieses Plasmastreifens sehen wir ein dunkleres Körperchen, dessen Bedeutung mir dunkel geblieben ist — es scheint jedoch, wenn wir die Verhältnisse in der 3., 4. und letzten Zelle vergleichen, wahrscheinlich, daß diese Körperchen mit der Bildung der Querwand etwas zu tun haben.

Daß es sich hier sicher um den Kern handelt, ist zweifellos, denn ich habe in diesem Falle am klarsten die Teilung direkt beobachten können.

Eine recht dicke Scheide, die sich gleichzeitig recht tief tingierte, besitzen andere Arten, die ich in Fig. 2 abgebildet habe. Die Exemplare  $\alpha$  und  $\delta$  scheinen verschieden zu sein, wogegen  $\beta$  und  $\gamma$  zu derselben Art gehören. Im Faden  $\alpha$  sehen wir in der 5. und 7. Zelle (von oben gezählt) den Kern mit deutlicher Membran versehen. Im Inneren, welches einmal ganz weiß und im zweiten Falle hellblau erscheint, liegt eine chromatische Kugel. In der vorletzten Zelle begegnen wir einem für die verschiedenen Bakterien ganz typischen Bau: Das periphere Protoplasma begrenzt zwei Alveolen, zwischen welchen im zentralen Plasma ein Kern liegt. In den übrigen Fällen habe ich recht interessante Verhältnisse konstatieren können: Die Mitte jeder Zelle nimmt ein lichtbrechender, ovaler Körper ein, in dem entweder ein oder zwei parallele, streifenförmige Chromatinpartieen liegen — in zwei Fällen in der Abbildung Fig. 2 $\alpha$  — also Aequatorialplatte, und in zwei anderen Dyaster.

Es ist weiter nicht ausgeschlossen, daß jenes Gebilde, das ich einen „lichtbrechenden, ovalen Körper“ genannt habe, nichts anderes ist als die achromatische Figur — und es scheint wahrscheinlich zu sein, daß das Stadium in der vorletzten Zelle in  $\alpha$  ein Vorstadium des Dyasters bildet, wo nämlich das Chromatin vermehrt ist und die achromatische Spindel als zwei seitlich gelegene Waben erscheint.

Bei  $\delta$  sind die Verhältnisse anders: Die Teilung verläuft hier ähnlich wie bei Fig. 1. Es bildet sich hier an einem sich zur Teilung vorbereitenden Kerne zuerst eine Achse, auf welcher sich die zwei Tochterkerne auseinanderschieben, so daß wir eine hantelförmige Figur zu beobachten Gelegenheit haben. Die zu den einzelnen Tochterkernen gehörenden Plasmaanteile nehmen eine halbmondförmige Gestalt an. In

der Mitte sehen wir in zwei Tochterplasmen je zwei Chromatinkugeln, die zu erklären ich leider nicht in der Lage bin. Vielleicht muß man sie als echte Chromosomen betrachten, die aus einem Tochterkerne entstehen, ehe sich derselbe zu einem normalen, ruhigen Kerne ausbildet. Dieser Faden besitzt ebenfalls wie die übrigen drei in Fig. 2 keine Scheidewände.

Bei  $\beta$  und  $\gamma$  haben wir es mit einem ganz ähnlichen Faden zu tun — die Teilung spielt sich jedoch ganz anders ab. In dem Falle  $\alpha$  haben wir eine ganz typische, mitotische, im Falle  $\delta$  dagegen eine amitotische, direkte Teilung vor uns. Die zwei anderen Fälle jedoch scheinen eine mittlere Stelle zwischen beiden einzunehmen. Auch hier liegen die Teilungen in einem hyalinen, ovalen, während der Anfangsstadien runden Raume. Die Tochterkerne aber bleiben kugelig, wie in dem Falle  $\delta$ .

Es ist natürlich nicht ausgeschlossen, daß es sich hier eher um verschiedene vegetative Stufen handelt, als um verschiedene Arten.

Ähnlichen Farbenton hat die in der Fig. 5a  $\beta$  abgebildete Art angenommen. Auch hier begegnen wir einer dicken, ziemlich dunkelblau gefärbten Scheide, die jedoch keine freie Zellen, wie die vorigen vier Fäden, enthalten, sondern ganz typische, ziemlich lange Bacillen. Zwei von denselben, das erste Individuum in  $\alpha$  und die ersten zwei, sowie das vorletzte in  $\beta$ , sind einkernig, die übrigen sind zwei- und dreikernig. In vier Fällen besitzen die Zellen metachromatische Körnchen, in allen Fällen sehen wir Plasmabrücken oder Querwände oder beides gleichzeitig. Die erste Zelle in  $\alpha$ , die ruhend ist, besitzt einen homogenen Kern, wogegen eine ähnliche, nämlich die vorletzte in  $\beta$ , einen Kern mit dem auf einer Seite orientierten Chromatin zeigt. Die drei ersten Zellen in  $\beta$  verdienen jedoch erhöhte Aufmerksamkeit: Die Kernsubstanz ist nicht mehr ruhend, sondern in zwei Zellen im Dyasterstadium, in der zwischen denselben liegenden in der Aequatorialplatte, der wir schon zweimal begegneten, obschon ich bei meinen früheren Untersuchungen (bei den symbiotischen Bacillen des *Periplaneta*-Darmes) nur einmal sie zu beobachten Gelegenheit gehabt habe.

Gleichzeitig mit den eben beschriebenen Arten ist eine andere fadenförmige Art vorgekommen, die auf Fig. 3 und 4 veranschaulicht ist. Im Gegenteil zu den bisher beschriebenen, besitzt diese Art eine dünne, blau gefärbte Membran; diese Hülle schützt kurze Zellen von wabigem Bau, die entweder einen oder mehrere Kerne besitzen. In dem Plasmagerüste begegnet man bei Fig. 3 feinen und deutlichen Mikrosomen. — Die erste Zelle und die vierte in der Fig. 4 scheinen einen normalen Bau zu haben, wo nämlich der Kern aus zwei in einer kreisförmigen Kernmembran eingeschlossenen Chromosomen besteht. Vor der Teilung vermehrt sich die Chromatinsubstanz, um dann wieder eine hantelförmige Figur zu bilden. Die Verbindung löst sich auf, so daß wir zu dem Bilde gelangen, wie ihn Fig. 4, zweite und dritte Zelle, und Fig. 3a zeigen. Die vierte Zelle in Fig. 3a zeigt uns ein bisher nicht beobachtetes Stadium, das dem in der ersten Zelle folgt, wo nämlich die Teilung des Mutterkernes gerade angefangen hat. In Fig. 3b begegnen wir einem mir dunkel gebliebenen Stadium — das ich noch später ein paarmal zu beschreiben Gelegenheit finden werde — wo nämlich die chromatische Substanz vermehrt und in mehreren Kugeln im Zelleibe zerstreut ist. Ich habe jedoch mehrere Gründe zu der Annahme, daß die chromatischen Kugeln durch nichtgefärbte Verbindungen vollkommen im Zusammenhange stehen.

Eine ganz ähnliche, wenn nicht dieselbe Art zeigt die Fig. 9. Die mittlere Zelle zeigt eine deutliche Kernmembran und zwei Chromosomen.

Fig. 6 zeigt recht interessante Verhältnisse. Dieser Faden färbt sich nicht, ist jedoch durch sein großes Lichtbrechungsvermögen sehr gut sichtbar. Sein oberer Abschnitt enthält bakterienförmige Zellen, der mittlere besteht aus durch Querwände abgetrennten Zellen, die letzten zwei Zellen dagegen sind von derselben Form und Struktur, wie die ersten. Auch hier sehen wir den Kern mit einer feinen, scharfen, gewöhnlich kreisförmigen Membran umgeben. Jeder Kern im Ruhestadium besitzt vier Chromosomen, welche manchmal zusammenfließen können, so daß wir drei, zwei oder einer großen Chromatinkugel begegnen. Im letzten Falle verschwindet die Kernmembran. In einzelnen Fällen war das Chromatin direkt im Protoplasma eingelagert, vielleicht unmittelbar nach der stattgefundenen Teilung. In manchen Fällen ließ sich das zentrale Plasma rings um den Kern, dank seinem niedrigeren Lichtbrechungsvermögen, gut beobachten.

Merkwürdige Verhältnisse zeigt die auf den Fig. 7, 8, 10a b, 11, 13, 14 veranschaulichte Art. Es sind Fäden, die aus einer großen Zahl ziemlich großer Stäbchen zusammengesetzt sind. Die Stäbchen besitzen eine rosa bis violett sich färbende, quergestreifte, schleimige Hülle. Die Streifung ist blau, jedes Streifchen endigt an der Peripherie mit einem Knöpfchen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß es sich hier um feine Kanälchen handelt (Fig. 7 $\beta$ ). Die Stäbchen selbst scheinen eine schaumige Struktur zu besitzen, es ist jedoch schwer, zu entscheiden, ob es sich dabei nicht vielleicht um das Flächenbild der Schleimscheide handelt. In Fig. 10a sehen wir mindestens, daß im Inneren der Stäbchen plasmatische, quere und schiefe Brücken vorhanden sind, die also vielleicht die wirkliche innere Struktur der Stäbchen vorstellen. In den ersten Augenblicken ist nichts anderes als das eben Beschriebene auf den Stäbchen zu finden. In ein paar Minuten jedoch werden schmale, hellblaue Brücken zwischen den einzelnen Stäbchen sichtbar, so daß wir einen direkten Zusammenhang des Ganzen vor uns haben. Wenn man aber noch längere Zeit wartet, manchmal eine Stunde und mehr, oder wenn man die Färbung mittels dazu geeigneter Reagentien forciert, dann erscheinen fast plötzlich im Innern der Stäbchen ein oder zwei dunkle Körper — im letzteren Falle gewöhnlich auch eine Querwand (Fig. 8). Jetzt geht die Differenziation der Färbung rasch vor sich, und nach Vollendung derselben sehen wir deutliche, mit einer kreisförmigen Membran versehene Kerne, die das Chromatin entweder in der Form von zwei differenzierten Chromosomen oder in der Gestalt eines herz- oder nierenförmigen Chromatinkörpers besitzen. Daß aber die Zahl zwei für die Chromosomen bei dieser Art nicht spezifisch ist, wenigstens bei ruhenden Kernen, das beweisen andere, erst ein paar Tage später beobachtete Fäden derselben Art. Bei diesen finden wir in jedem Stäbchen eine ganze Menge Kerne — reich an Chromatin — von welchen einige zwei, andere drei, gewöhnlich aber vier Chromosomen besitzen. Das reichliche Vorhandensein von Scheidewänden weist darauf hin, daß es sich hier um eine lebhaftete Teilung handelt. Ähnliche Verhältnisse zeigt auch der Faden Fig. 10b, welcher jedoch nicht mehr so chromatinreich ist, wie der eben beschriebene und nebstdem auch die netzartige Struktur zeigt. Noch ärmer an Chromatin ist das in der Fig. 11 abgebildete Exemplar, in welchem das Chromatin in einzelnen Kügelchen in den Zellen zerstreut ist. Mit diesen drei Stäbchen

können wir die in Fig. 12, 13 und Fig. 14 veranschaulichten Verhältnisse vergleichen, die fast 3 Wochen früher als die ersteren vorgekommen sind. Zwischen dieser Zeit habe ich öfters manche dem auf Fig. 11 veranschaulichten ähnliche Fälle zu beobachten Gelegenheit gehabt, in welchen aber die chromatischen Kugeln weit zahlreicher vorkamen. In der erwähnten Zeit habe ich fast nie die netzartige Struktur erhalten, höchstens habe ich ihre Spur in der Gestalt von zerstreuten violetten Punkten gesehen. Die Stäbchen waren nunmehr von kurzen, parallelen, nicht mehr blauen, sondern violetten Strichelchen begrenzt, ein Ueberbleibsel der eben beschriebenen Strukturen. Die zahlreichen chromatischen Kugeln liegen in blaugefärbten, einmal schmalen, andere Male dagegen recht breiten Protoplastastreifen. Dieser Inhalt befreit sich aus den degenerierten, gestreiften Hüllen vollkommen, das blaue Protoplasma wird blaß (entfärbt sich) und aus dem Ganzen wird ein langes bacillus- oder vibrio-ähnliches Stäbchen mit einfacher Kontur. Am besten habe ich diesen Vorgang bei einem freien Stäbchen (Fig. 12, 13) beobachten können. Aus einem violetten Stäbchen ist nach dem Schwunde der Hülle ein einfaches, stark lichtbrechendes Stäbchen, in welchem allmählich die blauschwarzen Chromatinkugeln erschienen, geworden. Obwohl dieser Vorgang recht sonderbar erscheint, muß ich doch bemerken, daß jeder Irrtum meinerseits ausgeschlossen ist, da ich zufälligerweise dieses Stäbchen 2 Stunden nicht außer Augen gelassen habe.

Die in der Fig. 15 abgebildeten gekrümmten und geraden Stäbchen gehören aller Wahrscheinlichkeit nach zu der eben beschriebenen Gattung, da sie früher nie in den Kulturen zu konstatieren waren, und nach nicht gerade langem Vorkommen wieder ganz verschwunden sind. Diese Stäbchen besitzen eine sehr starke Hülle; das blasse oder schwach rosa gefärbte Innere enthält manchmal plasmatische Brücken, sowie auch quere Scheidewände; ein Stäbchen ist auch polar deutlicher gefärbt (Fig. 15a).

Etwa 5 Monate nach der Beobachtung dieser merkwürdigen Fasern habe ich eine andere Art von Metamorphose derselben Gattung beobachtet. Es sind die auf der Fig. 24 reproduzierten Formenverhältnisse.

Die oberflächliche Struktur läßt uns ohne Zweifel die Angehörigkeit zur eben beschriebenen Gattung erkennen. Dagegen habe ich in diesem Falle die inneren Strukturen, hauptsächlich die Kernverhältnisse, nie gesehen. Schuld daran sind die physiologischen und chemischen Zustände, in denen sich die Bakterien in verschiedenen Stadien ihrer Entwicklung befinden, da schon verschiedene Fäden derselben Gattung auf derselben Entwicklungsstufe, wie bereits erwähnt, verschiedene Affinität zu der Farbe zeigen. Desto mehr muß dieser Umstand bei einer und derselben Gattung, aber in recht entfernten Stadien, zur Geltung kommen.

Auf der erwähnten Abbildung sehen wir bei  $\alpha$  ganz klar, welchen Veränderungen die Stäbchenreihen unterliegen. Die früher blaß sich färbende Brücke scheint jetzt dichter zu werden und imbibierte sich ziemlich stark mit Methylenblau, so daß sie sich tiefblau tingiert. Allmählich verlängert sich, wahrscheinlich durch polare Ausscheidung aus den Stäbchen, diese Brücke so, daß sie nunmehr einen langen Faden bildet, der die einzelnen, inzwischen veränderte Form zeigenden Stäbchen verbindet. Die Stäbchen haben anstatt der früheren „Bacillus-

form“ die „Clostridium-Form“ angenommen. Ich habe eben gesagt, daß die Fäden wahrscheinlich aus den Stäbchen ausgeschieden werden. Für diese Anschauung spricht der Umstand, daß mit der zunehmenden Länge der Fäden gleichzeitig die Größe der Zellen selbst abnimmt, denn die „Spiromonas“-ähnlichen Stadien dieser Prozesse sind manchmal ziemlich klein im Verhältnis zu den Mutterzellen ( $\delta$ ). — Die Verbindungsfäden reißen im weiteren Verlaufe ab, so daß die einzelnen, ihre Form mehr oder weniger aufgebenden Individuen frei werden. Es sind die mit  $\gamma$ — $\varepsilon$  bezeichneten Gebilde, die verschiedene Formverhältnisse zeigen. Die Entwicklung bleibt jedoch bei der geißeltragenden „Spiromonas-Form“ nicht stehen. Der ovale Körper schnürt sich in der Mitte ein, so daß wir zu einer zweifachen Spore gelangen, die auf den Polen je eine Geißel trägt, die mittels einer Kappe der Zwillingsspore ansitzt. Die Geißeln zeigen manchmal einen homogenen Bau ( $\zeta_2$ ), manchmal dagegen scheinen sie scharf konturiert zu sein und einige kugelförmige Körperchen in ihrem Inneren zu besitzen ( $\zeta_1$ ). Manchmal habe ich auf diesen „Diplosporen“ eine oberflächliche, längsverlaufende Linie gesehen, die ich hier und da auch bei den Mutterstäbchen zu beobachten Gelegenheit hatte (Fig. 10b, das oberste Stäbchen). — Irgend eine Bewegung habe ich bei diesen Gebilden nie gesehen, obschon ich trotzdem ein eigenes Bewegungsvermögen für diese Geißelsporen anzunehmen geneigt bin, und zwar um so mehr, als gerade diese Verhältnisse das letzte von mir Beobachtete vor dem Abbrechen dieser Untersuchungen bilden.

Diese Sachen stimmen vollkommen mit dem, was Billet in seiner vorzüglichen Arbeit, „Contribution à l'étude de la morphologie et du développement des bactériacées“ (Bulletin scientifique de la France et de la Belgique. 1890), beschreibt und abbildet (p. 54. Fig. 3) überein.

Billet<sup>1)</sup> hat unter anderem den Entwicklungsgang bei *Cladothrix dichotoma* verfolgt und unterscheidet vier Hauptstadien:

„*Cladothrix dichotoma* parcourt, dans son cycle évolutif, quatre états bien distincts: l'état filamenteux, l'état dissocié, l'état enchevêtré et l'état zoogléique.“

Diese Stadien sind nach ihm durch verschiedene Umstände und Bedingungen des Milieu gegeben — es können aber ein oder zwei Stadien übersprungen werden, so daß die ganze Entwicklung nicht unbedingt komplett sein muß. Dabei gibt Billet an, daß „l'état filamenteux est l'état végétatif par excellence“. Aus diesem vegetativen Stadium gehen, nachdem das Ganze noch das Uebergangsstadium „l'état enchevêtré“ durchgemacht, die freien Elemente hervor. Diese freien Elemente (l'état dissocié) können verschiedenste Formen besitzen.

Eine Art dieser freien Elemente hat dieselbe Form, wie ich soeben beschrieben: Es sind zweifache ellipsoidische Zellen, die polständige Geißeln besitzen. Trotzdem aber gibt es auch anders aussehende freie Zellen, wie z. B. vibrio- und spirillenartige Formen. Bei den geißeltragenden Diplosporen hat Billet eine eigene eigentümliche Bewegung beobachtet und l. c. Fig. 5 u. 6 veranschaulicht. Ich habe, wie bereits weiter oben erwähnt, in meinem Falle die Bewegung nicht gesehen, obschon ich sie trotzdem nicht leugnen will.

Es ist daraus ersichtlich, daß der Entwicklungsvorgang bei den

1) In seinem Werke findet man auch nebst einem ausführlichen Literaturverzeichnis eine historische Uebersicht bis auf das Jahr 1889.

verschiedenen Arten mindestens in den Hauptzügen derselbe sein wird — wie man sich überzeugen kann, wenn man die glänzenden Resultate vergleicht, die Billet außer bei *Cladothrix dichotoma* auch bei *Bacterium Balbianii*, *Bact. osteophilum* und *Bact. parasiticum* erhielt. Es wundert mich nicht wenig, daß die so viele neue Tatsachen und neue Fragen darbietende Arbeit, wie es die Billetsche Schrift ist, ganz unbeachtet und unbekannt geblieben ist. Ich habe mich bei Gelegenheit meiner Untersuchungen sehr oft überzeugt, daß die Resultate von Billet in vielen Punkten, die ich an dieser Stelle veröffentliche, sowie auch in vielen anderen, die ich mangels Zusammenhang mit dem Ganzen für jetzt nicht erwähne, vollkommen bestätigt werden können <sup>1)</sup>.

Ich bin überzeugt, daß die eben beschriebene Art eine kompliziertere Entwicklung aufweisen wird, als ich angeben kann — der ganze Entwicklungszyklus aber nimmt wahrscheinlich längeren Zeitraum in Anspruch, als meine Beobachtungen dauerten.

Das in Fig. 16 veranschaulichte Bruchstück eines Fadens ist der eben beschriebenen Art vollkommen ähnlich, was die Struktur anbelangt — der Faden ist hier jedoch kontinuierlich — nur die schleimige Hülle ist hier segmentiert. Diese Gebilde sind gleichzeitig mit den kolossalen bacillenförmigen Formen, sowie mit ähnlich gebauten kleineren vorgekommen. Ich habe mehrere Gründe, anzunehmen, daß die 0,003 mm breite und 0,049 mm lange, auf der Fig. 17a abgebildete Form sich aus der kleinen Fig. 17b durch direktes Wachstum und aus der großen durch ein in der schleimigen Hülle sich abspielendes Abschnüren des in Fig. 16 veranschaulichte Fadens ableiten läßt. \*Wenn die Abschürung auch auf den Fadenkörper selbst übergreift, dann bekommen wir, natürlich nach einer Differentiation der Hülle, die in Fig. 7—11 veranschaulichten Stäbchenreihen. Doch habe ich eine direkte Beobachtung des Geschilderten nicht gemacht.

In demselben Verhältnisse, wie die Fig. 14 zu Fig. 8, stehen offenbar die Fig. 18a b zu den Fig. 9 und Fig. 3—4. Beide Formen, die in Fig. 3, 4, 9 einerseits und die auf Fig. 18 andererseits, gehören zu einer und derselben Art. In diesem letzteren Falle finden wir dieselbe Schaumstruktur der einzelnen Zellen, wie früher, nur die chromatische Substanz hat eine ganz andere Anordnung. In Fig. 14a sehen wir, daß die Mitte der Zellen eine blaugefärbte, in der Längsachse stehende Masse einnimmt. In dieser Substanz sind, in einzelnen Zellen verschieden klar, schwarzblaue Körner eingebettet. Viel reicher als diese chromatische Substanz ist das zweite Bruchstück eines Fadens derselben Gattung, und noch reicher das Stück eines Fadens in der Fig. 18b. Es muß jedoch hervorgehoben werden, daß Fig. 18a und Fig. 18b eine und dieselbe Stelle in einem Faden sind, daß also somit das chromatinarme Exterieur und das chromatinreiche keine Stadien der Entwicklung sind, das Ganze also nur eine mehr oder weniger vorgeschrittene Färbung bedeutet. Derselben Art sind auch die in den Fig. 20, 21, 22 abgebildeten Fäden.

Für die in den letzterwähnten 3 Figuren veranschaulichten Struktur-

1) Ich bemerke bei dieser Gelegenheit, daß mir eine andere französische Arbeit von Künstler und Chaîne (Notice sur le cryptococcus) bekannt geworden ist, die in den Hauptzügen mit dem, was Vejdovsky und ich ermittelt, ganz übereinstimmt. (Arch. d'anat. microsc. T. VI. 1903. Fasc. 1.)



verhältnisse kann ich leider keine Erklärung finden. In der Fig. 21 sehen wir in einer Scheide einen langen, in der Achse gelagerten Streifen, der blau gefärbt, eine Menge von tiefblau gefärbten Körnelungen führt. Dieser Streifen scheint ganz frei in der Hülle zu liegen — es muß aber natürlich vorausgesetzt werden, daß sich derselbe im Protoplasma befindet, welches dank seiner optischen Eigenschaften und aus Mangel an Affinität zur Farbe nicht zum Vorschein kommt. Der chromatische Streifen läßt sich auf eine sehr große Strecke gut verfolgen — doch auf einmal zerfällt er in einzelne kurze Stäbchen, deren Länge derjenigen der künftigen Zellen entspricht. Diese Tochterstreifen sind hier und da kugelig verdickt — die erste Spur vom Zusammenballen des Chromatins. Während dieses Vorganges sammelt sich auch das Protoplasma in der Umgebung der Streifen, so daß wir schon, da das Protoplasma tingierbar ist, einzelne Zellen leicht bemerken können. Die Chromatinstreifen sind einmal hellblau mit mehr oder weniger gefärbten Kugeln, andere Male sind sie aber gleichmäßig schwarzblau gefärbt (Fig. 22a, die zwei letzten Zellen). Es scheint auch der auf Fig. 22c abgebildete Faden hierher zu gehören. Nur ist hier die Differenzierung der Farbe weiter vorgeschritten. In dem bisher sehr lichtblau gefärbten und homogenen Protoplasma der einzelnen Zellkörper erkennt man bald im Verlaufe der weiteren Entwicklung runde lichtbrechende Körperchen, die sich regelmäßig um das Chromatinstäbchen herum beiderseits gruppieren, das Protoplasma verdrängen, so daß man auf diese Weise zu den in Fig. 9, 15, 18, abgebildeten Plasmastrukturen zurückkommt, bloß mit dem Unterschiede, daß früher die Augen des Plasmanetzwerkes keine lichtbrechenden Tropfen enthielten. — Wie bereits erwähnt, konnte ich nicht ermitteln, welche Bedeutung die eben besprochenen kontinuierlichen Plasmastreifen besitzen, welches ihr Vorstadium ist und welche Bedingungen es sind, die diese Strukturverhältnisse beeinflussen.

Ein anderer, eine scharf ausgesprochene netzartige Plasmastruktur besitzender Faden ist der in der Fig. 23 $\alpha$   $\beta$  abgebildete. In der Mitte der einzelnen Zellen sehen wir gewöhnlich einen bläschenförmigen, mit einer hellblauen, jedoch recht scharf hervortretenden Membran umgebenen Kern, der gewöhnlich ein einziges, zentral gelagertes, ziemlich großes Chromosom besitzt. Dieses Chromosom (letzte Zelle in Fig. 23 $\beta$ ) teilt sich allmählich in zwei kleinere, die sich langsam vergrößern, gleichzeitig aber auseinanderrücken, um dann eine Stellung an der Peripherie des Kerns einzunehmen. Durch weiteres Auseinanderrücken der Chromosome wird der Kern auch in Mitleidenschaft gezogen, so daß derselbe eine ziemlich längsovale Form annimmt. Nur selten sehen wir in einem Kerne 3 Chromosome. Es ist klar, daß es sich dabei um eine Teilung handelt, da wir nebenbei in einzelnen Zellen (Fig. 23 $\alpha$  z. B.) 2 Kerne finden können, von denen der eine bereits wieder in Teilung geraten ist. — In den Ecken — gewöhnlich in allen 4 — sehen wir eine kleine, homogen und leicht dunkler gefärbte Stelle. Es ist nicht ausgeschlossen, daß es sich dabei um die erste Stufe der Bildung einer Polfärbung oder einer festeren Hülle oder sogar um beides gleichzeitig handelt.

Obzwar also, wie aus dem bisher Geschilderten deutlich hervorgeht, die Beschaffenheit der Hüllen, die Größe, Form der einzelnen Zellen, sowie die Abgrenzung derselben gegeneinander und die Plasmastruktur sehr verschieden ist, ist dagegen der Bau des Kernes immer



derselbe. Wie ich in der von mir bereits erwähnten, in diesem Centralblatte veröffentlichten Arbeit nachgewiesen, besitzen die ruhenden Kerne der symbiotischen Bacillen eine scharfe Membran, in der die Kernsubstanz eingeschlossen ist. Die vorliegenden Untersuchungen haben die Richtigkeit der früheren Befunde glänzend bestätigt, und diese Tatsache ist auch für die verschiedensten, hier besprochenen Formen gültig. Es ist mir nur selten vorgekommen, daß ich die Kernmembran bei den ruhenden Kernen nicht ermitteln konnte. Der äußerst interessante, auf Fig. 25 veranschaulichte Faden besteht aus einzelnen, durch starke, dunkel gefärbte Zwischenwände getrennten Zellen, die sich in verschiedenen Entwicklungszuständen befinden. Genau in der Mitte erblicken wir 2 elliptische, scharf konturierte Kerne, an deren Umfange die chromatische Substanz in der Form von kleinen Kügelchen orientiert ist. Daß die Membran und das Chromatin nicht die einzigen Bestandteile des Kernes sind, das läßt uns eine leichte lichtblaue Verfärbung des Innern des Kernes vermuten. — Ich spreche vom ruhenden Kerne auch in dem Falle, wo, wie ich eben jetzt und auch weiter oben angegeben, die Chromatinsubstanz in Kugeln zusammengeballt ist. Solchem über den ganzen Kern gleichmäßig verteilten Chromatin, wie ich es in meiner früheren Mitteilung geschildert, begegnen wir bei den jetzt in Betracht kommenden freien fadenartigen Bakteriengattungen fast nie, was in der raschen Vermehrung und dem schnellen Wachstum seine Ursache hat. (Ich halte es nicht für ausgeschlossen, daß die letzte Zelle einen wirklich ruhenden Kern enthält — denn wo das Chromatin in kugelige Chromosome zusammengeballt ist, sei es auch bei erhaltener Membran, kann man nicht mehr von wirklicher Ruhe des Kernes sprechen.) Der eben besprochene Faden (Fig. 25) war einer von denjenigen, bei welchen ich, wie ich gleich im Anfange bemerkt habe, die Teilungsvorgänge direkt beobachten konnte. Es ist unglaublich, wie rasch die einzelnen Stadien nacheinander folgen. Leider sind es sämtlich lichtbrechende, hyaline Formen, die sehr rasch die Farbe in sich aufnehmen, jedoch die schöne, scharfe Differentiation nicht lange behalten, sondern sich sehr bald diffus und einförmig färben. Dies ist auch der Hauptgrund, daß ich über irgend eine Sporenbildung bei diesen Arten keine Aufschlüsse geben kann. Billet (l. c. p. 86 u. f., Taf. IV) läßt in der Spitze der Fäden Sporen entstehen und beschreibt und bildet sogar die Art und Weise, auf welche neue Fäden aus den so entstandenen Sporen emporwachsen, ab. Von diesen Sporen unterscheidet er selbstverständlich die erwähnten Diplosporen und sagt direkt (p. 89): „Les éléments elliptiques mono- ou disporés que nous venons de décrire, et que l'on peut considérer comme de véritables sporanges, ne sont pas les seuls éléments sporifères que l'on rencontre dans les filaments végétatifs.“ Ich habe nie die Endigung der Fäden zu beobachten Gelegenheit gehabt und will mich nicht in dieser Hinsicht aussprechen, umsomehr, da ich keine Gründe habe, etwa an den klar auseinandergelegten und noch klarer abgebildeten Billetschen Beobachtungen zweifeln zu sollen. In dieser Hinsicht, sowie auch in mancher anderen sind, wie ich mir äußerst klar bewußt bin, meine Beobachtungen recht lückenhaft, daß es aber nicht meine Schuld ist, habe ich gleich eingangs gesagt.

Kehren wir zu unserer Beschreibung zurück. Beiderseits von den erwähnten 2 Kernen sehen wir verschiedene Stadien einer Teilung. In den Kernen ballt sich die chromatische Substanz zu 2 großen, kugeligen

Chromosomen zusammen, die Kernmembran löst sich auf, so daß die Chromosomen, die sich quer auf die Seitenwände stellen, frei in einem queren, hellblau gefärbten Streifen liegen (vierte Zelle von unten). Jedes Chromosom teilt sich in 2 Kugeln, die langsam auseinanderrücken, bleiben aber durch ein schwarzblaues Band im Zusammenhange, so daß wir zwei, in ihren Achsen mit der Längsachse des Fadens parallel gelegene, hantelförmige Gebilde zu Gesicht bekommen. Bei gewisser Entfernung beider Tochterchromosome entsteht zwischen der ganzen Quadrille eine feine Querwand, so daß wir ziemlich früh 2 selbständige Tochterzellen vor uns haben.

Das Vorkommen zweier Chromosome muß für diese Form gesetzmäßig gehalten werden. Zu dieser bivalenten Form habe ich als Pendant eine univalente beobachtet, deren Bild ich auf Fig. 26 vorführe.

Es handelt sich hier um eine zarte Form, in welcher einzelne Zellen selbst ganz nackt, in einer feinen Scheide stecken. Die Zellen besitzen eine genau quadratische Form, ausgenommen solche, die sich in gewissen Teilungsstadien befinden. Das Protoplasma färbte sich hellblau. In der Mitte des Quadrates erblickt man einen schwarzblauen, kugeligen Kern, der einfach ein Chromosom ist (irgend eine Membran läßt sich nicht, trotz meiner vorzüglichen optischen Hilfsmittel<sup>1)</sup>, konstatieren — dieser Faden ist selbstverständlich äußerst minutiös). Das Chromosom teilt sich in zwei (die unterste Zelle), die sich frühzeitig in die Längsachse stellen und auseinanderrücken, jedoch bleiben in diesem Falle die Tochterchromosomen, wenn auch ziemlich weit entfernt, doch mittels einer „Chromatinachse“ verbunden (siehe die vierte Zelle von unten). Diese Achse verschwindet dann, und zwischen beiden so entstandenen Tochterkernen bildet sich im Protoplasma eine schmale Lücke, die dauernd schmaler als die ursprünglichen Zwischenräume bleibt, so daß die Zellen immer zu zwei und zwei nacheinanderfolgen. Erst dann, wenn sie sich zum Teilen vorbereiten, rücken sie weiter voneinander, so daß die paarweise Anordnung immer erhalten bleibt.

Bei den bisher beschriebenen Fadenbakterien haben wir den Kern konstant genau in der Mitte der Zellen gefunden. Bloß in der Fig. 8 und 5 $\beta$  finden wir es anders — doch handelt es sich hier um eine nur unbedeutende Verschiebung gegen einen Pol der Zelle. Dagegen scheint bei dem Faden Fig. 27 die exzentrische Lage der Zellbestandteile die regelmäßige zu sein. Es handelt sich hier um eine ziemlich große, lichtbrechende und die Farbe sehr distinkt differenzierende Art. Die gemeinsame Scheide sowie die eigenen Hüllen der einzelnen Zellen nehmen keine Farbe an — nur die Lichtbrechung läßt uns, natürlich in sehr scharfer Weise, die Begrenzung des Ganzen erkennen. Die Pole der Zellen sind abgerundet und die Nachbarzellen berühren sich in der Regel mit ihren Polen. Das Protoplasma ist fein blau gefärbt, nur in einer Hälfte des ganzen Stäbchens angesammelt und reicht gewöhnlich bis zu dem einen Pole. Wo dies nicht der Fall ist, ist das Plasma doch nicht allzu weit von demselben entfernt. In dem Protoplasma sieht man runde oder ovale, ungefärbte und auffallend lichtbrechende Stellen, in denen große oder kleinere chromatische Kugeln eingelagert sind. Diese lichtbrechenden Körper kann ich nicht anders

1) Ich habe durchweg mit einer vorzüglichen Zeisschen Apochromat-Immersion 2 mm gearbeitet.

als achromatische Substanz oder, um es direkt zu sagen, als achromatische Bestandteile einer mitotischen Figur ansehen.

Mit dem eben beschriebenen Fadenbakterium wäre ich mit der Beschreibung der Strukturverhältnisse fertig — es erübrigt noch, ein Fadenbruchstück zu besprechen, dessen Verhältnisse in Fig. 28 veranschaulicht sind und die durch ihre Eigentümlichkeit in den Rahmen der bisher besprochenen Tatsachen nicht passen.

Wie ich schon oben erwähnte, sind bereits früher von manchen Seiten her verschiedene Gebilde, die gegen verschiedene Farben einigermaßen hohe Affinität zeigten, für Kernäquivalente erklärt worden. Diese Ansicht bürgerte sich in der Wissenschaft tief ein — und sogar Vejdovský nimmt an, um seine überraschenden Befunde mit fremden negativen Resultaten gewissermaßen in Einklang zu bringen, daß es im Verlaufe der Entwicklung der Bakterien Stadien gibt, wo sich die chromatische Substanz in dem Bakterienkörper verteilt, so daß es unmöglich ist, in solchen Zuständen, wo sich das Chromatin nicht in der Ruhe befindet (was die rasche Teilung bedingt), einen Kern zu beobachten. Von den neuesten hierher gehörenden Befunden soll die Schaudinn'sche Arbeit<sup>1)</sup> genannt werden. Dieser verdienstvolle Forscher nimmt auf Grund seiner Untersuchungen an *Bacillus Bütschlii* an, daß die Kernsubstanzen, mindestens bei dieser Art, noch nicht wie „bei höheren Mikroorganismen (vielleicht auch bei anderen Bakterien im Zentralkörper Bütschli's) in einem morphologisch differenzierten Gebilde, dem Zellkern, eine bestimmte Gruppierung und Organisation angenommen haben, bei unserem *Bacillus* während des größten Teiles seines Lebens diffus durch das ganze Plasma verteilt sind; nur bei der Sporenbildung kommt es zur Ausbildung eines den echten Zellkernen der höheren Organismen vergleichbaren Gebildes“ etc. (p. 335 u. 336). Schaudinn selbst sagt ausdrücklich, „daß es verfehlt wäre, von der hier beschriebenen, zweifellos eigenartigen Bakterienform allgemeine Schlüsse auf den Bau und die Fortpflanzungsvorgänge der Bakterien im allgemeinen zu ziehen...“ Ich bin heute auf Grund meiner eigenen Erfahrungen zu der Ueberzeugung gekommen, daß alle Bakterien in jedem beliebigen Stadium eine deutlich ausgesprochene und gesetzmäßig angeordnete Kernsubstanz, einen wirklichen, formierten Kern besitzen, und daß die Bakterien eine recht hohe Stellung in der phylogenetischen Reihe der Protophyten einnehmen. Dafür spricht in eklatantester Weise die Organisation der Bakterien, sowie auch in nicht geringerem Maße der Entwicklungszyklus derselben Wesen. Ich für meine Person habe recht anstrengende und lange dauernde Versuche angestellt, um das, was ich auf vital gefärbten Präparaten gesehen, auch auf den Dauerpräparaten zum Vorschein zu bringen — jedoch alles umsonst. Bloß auf einem Präparate ist es mir nach vorherigem Beizen gelungen, die hantelförmigen Teilungsfiguren klar schwarzblau mittels Methylenblautinktion zu erhalten — dies war aber bloß in einem einzigen Faden und nur auf eine gewisse, ziemlich kurze Strecke. Auf ähnlich fixierten Präparaten, wie es das eben erwähnte war, habe ich mittels der Heidenhainschen Methode sowie mit anderen Farbstoffen durchaus negative Resultate erhalten. Sogar bei der vitalen Färbung habe ich immer die Strukturen nur auf eine gewisse, mehr oder

1) Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. p. 306—354.

weniger lange Strecke, beobachten können; einzelne Fadenteile, ja einzelne ganze Fäden und Fadenkomplexe sind immer ungefärbt geblieben. Ich bin überzeugt, daß es nur diese rein technischen Schwierigkeiten sind, die es uns bisher nicht erlaubt haben, in die Organisation der Bakterien näher einblicken zu können. Trotzdem aber, wie ich in meiner früheren Arbeit über diesen Gegenstand betont, kann man sogar auf den mittels Alkohol bis zu gewissem Grade entfärbten Karbolfuchsinpräparaten mehr oder weniger deutlich die Polfärbungen und den zentralen Kern finden — man war aber zu sehr an das unglückliche „iurare in verba magistri“ gewöhnt. Auch neuerdings habe ich zufälligerweise in einem Ausstriche von einem bei der Bindehautentzündung erschienenen Sekrete ebenfalls mittels Karbolfuchsin äußerst schön differenzierte Strukturen gesehen, die mit den von mir bei symbiotischen Bacillen beschriebenen vollkommen übereinstimmen.

Kehren wir also zu dem bereits erwähnten, auf Fig. 28 veranschaulichten Fadenbruchstück zurück. Es handelt sich dabei um eine Art, wo in einzelnen Zellen lichtbrechende Kügelchen im Plasma eingebettet sind und wo sich besondere Strukturverhältnisse des Kernes vorfinden. Der Kern ist nämlich nicht bläschenförmig, sondern die Chromatinsubstanz ist hier in zahlreichen Kugeln konzentriert, welche letztere mittels zarter, hellblau gefärbter Verbindungsfäden untereinander verbunden sind. Auch in der letzten Zelle lassen sich diese Fäden erkennen, sind jedoch noch nicht gefärbt gewesen, so daß sie sich bloß durch ihr anderes Lichtbrechungsvermögen, allerdings sehr deutlich, vom übrigen Inhalte der Zelle unterscheiden ließen. Dieser so merkwürdig formierte Kern erinnerte stark an den rosenkranzförmigen Kern z. B. bei Stentor. Inwiefern diese Verhältnisse den bereits beschriebenen in den Fig. 20—22 und 13, 14 und 18 entsprechen, will und kann ich nicht entscheiden.

Außer den eben beschriebenen Strukturverhältnissen der Fäden kann ich noch einige die Vermehrung und den Polymorphismus der Bakterien betreffende Aufschlüsse geben.

Eins habe ich schon beschrieben, und zwar die merkwürdige Umbildung der Stäbchen im Falle Fig. 13 und Fig. 24. Es gibt jedoch noch andere recht interessante Erscheinungen bei den Bakterien der Prager Wasserleitung — Erscheinungen, die einerseits bereits von Billet beobachtet worden, andererseits neu sind. In beiden Fällen kann ich etwas zur Erweiterung unserer Kenntnisse über den Bau der Bakterien beitragen:

Billet bespricht l. c. p. 48 die vier verschiedenen Arten, auf welchen sich die *Cladothrix dichotoma* aus dem „état filamenteux“ weiter entwickeln kann: a) einzelne Elemente des Fadens bleiben an ihrer Stelle und bilden endogene Sporen; b) sie schlüpfen aus der gemeinsamen Scheide heraus und leben frei und beweglich (l'état dissocié); c) in diesem dissoziierten Zustande können sie sich zu Zoogloën vereinigen oder wieder endogene Sporen produzieren; d) die ursprünglichen Fäden zerfallen in kleinere Bruchstücke, die sich ineinander verwickeln (état enchevêtré).

Auf meiner Fig. 29, 30, habe ich zwei Fäden abgebildet, die recht interessante Verhältnisse zeigen. In den bisher geschilderten Arten, nur die in Fig. 5 ausgenommen, haben die Zellen dieselbe Breite wie das Lumen der Hülle gehabt, so daß sie innen mit ihren Seitenwänden der Scheide dicht anlagen. In den bereits erwähnten zwei Fäden liegen die langen bacillus- und vibrioformigen

Zellen lose in der Scheide und schicken sich an, dieselbe zu verlassen. Die Elemente sind beweglich und eben diese Beweglichkeit ist ihnen beim Herausschlüpfen behilflich. In Fig. 29 ist ein Stück eines Fadens abgebildet, dessen Scheide plötzlich aufhört und eine Reihe eben herausgetretener Zellen freiliegend noch ihre Reihenfolgen behält. In diesem Zustande besitzen die einzelnen freien sowie die noch eingeschlossenen Stäbchen eine eigentümliche Struktur, indem in ihrem stark lichtbrechenden Inneren hellblaue, mit Endknöpfchen versehene, quere oder einigermaßen schiefe Brücken sichtbar sind. Einen Kern sieht man hier sowie in den weiter unten zu besprechenden Fäden Fig. 31 und 32 nicht — trotzdem aber darf nicht angenommen werden, daß hier keine Kerne vorhanden sind oder daß die Brücken ein Äquivalent des Kernes bilden — nur die schwere Färbbarkeit dieser Stadien ist schuld daran oder aber das kurze Einwirken der Farbe, daß die Kerne nicht zum Vorschein gekommen sind. Dafür sprechen die weiter abgebildeten Tatsachen.

Der in Fig. 31 abgebildete Faden zeigt sehr ähnliche Verhältnisse von dem, was Billet auf seiner Taf. III, Fig. 2 l. c. reproduziert. Dieser Faden enthielt ursprünglich eine einfache Reihe nacheinanderfolgender Zellen — jetzt weist er in fast regelmäßigen Abständen Anschwellungen auf, die durch eine Teilung der Zellen und ihre seitwärts erfolgte Stellung entstehen. In diesen Anschwellungen stehen dann die Stäbchen in doppelten, parallelen Längsreihen. Bei *Cladothrix dichotoma* läßt Billet aus diesen Anschwellungen, die bei dieser Art in den Verzweigungsstellen der Fäden gelegen sind, die „intercalaren Zoogloen“ entstehen. In meinem Falle jedoch bin ich eher geneigt, auch ein einfaches Herausschlüpfen der Zellen und erst nach Vollendung derselben eine nachträgliche Zoogloenbildung anzunehmen — sichere Nachrichten jedoch über diesen Gegenstand kann ich nicht geben.

Außer dem bereits beschriebenen Falle Fig. 29 spricht für das wirkliche Verlassen der Hüllen seitens der Zellen auch das in der Fig. 32<sup>1)</sup> Abgebildete. Es ist ein Teil von einem ganz verwickelten Komplex gleichartiger Fäden, um welche ringsherum zahlreiche freie, den eingeschlossenen ganz gleiche Zellen zerstreut sind — die einen ganz gerade, die anderen ein- oder zweimal gekrümmt. Daß diese freien Zellen ihren Ursprung in den Fäden haben, läßt sich offenbar nicht leugnen.

Dieser eben beschriebene Fall ist der letzte, wo ich fadenförmigen Bakterien begegnete — erst am Schlusse werde ich noch einen Fall beschreiben können. Ich habe nämlich meine Beobachtungen auf etwa drei Tage unterbrechen müssen — und als ich meine Untersuchungen nach dieser Pause wieder aufgenommen, sind alle Fäden verschwunden, bis auf die zwei verästelten *Cladothrix*-Arten, die auf den Fig. 33 und 34 veranschaulicht worden sind. Die erste zeigt in einigen Zellen einen deutlichen, in der Mitte der Stäbchen gelegenen, doch aber wandständigen Kern. Andere Zellen führen keinen Kern, auch die kleinen Körperchen nicht, die auf einer Seite in allen kernhaltigen Zellen vorkommen. Es ist ein neuer Beweis für den schon einige Male erwähnten Umstand, daß sich nicht alle Zellen sogar in demselben Faden und nicht gleichzeitig färben. Der andere Faden, Fig. 34, läßt keine Kerngebilde er-

1) Diese Figur, ebenso die Fig. 33 sind einzig im Verhältnis zu den übrigen kleiner gehalten, da dieselben nur bei einer gewöhnlichen Zeisschen Homogenimmersion entworfen sind.

kennen — schuld daran ist die vorgeschrittene Tinktion, die aus einer elektiven nach einer gewissen Zeit zu einer diffusen wird.

Die ausgewanderten Elemente werden also frei, umgeben sich mit einer schleimigen Masse und bilden eine Zoogloea. In dieser Zoogloea bleiben sie recht lange, teilen sich unterdessen sehr lebhaft und werden allmählich zu immer kleineren ovalen Zellen, die sehr viele Kerne führen. In Fig. 35 habe ich drei Exemplare von vielen in einer Zoogloea vorhandenen abgebildet, die mit ihrer Struktur vollkommen an die Fig. 29 und 30 erinnern. Die einzelnen Zellen vermehren durch Teilung ihre Kerne, die hier sehr dunkle chromatische Kugeln vorstellen, um sich dann zu spalten und kleinere und kleinere Gebilde zu produzieren. (Es sei hier bemerkt, daß der Befund von Kernen bei vibrionenförmigen Zellen dem entspricht, was Künstler und Gieste, Note sur une spirille. — Compt. rend. de l'assoc. des anat. Toulouse. 1904, beschrieben haben. Neuerdings hat ein Autor in einer großen medizinischen Wochenschrift hervorgehoben, die *Spirochaete pallida* gehöre zu den Spaltpilzen, einfach aus dem Grunde, weil bei derselben keine Kerne gefunden worden sind!) Solche Gebilde sind, von verschiedenen Arten natürlich, auf Tafel II abgebildet. Die inneren Strukturen sind recht verschieden — die Kerngebilde sind recht interessant, hauptsächlich diejenigen, die gerade in Teilung begriffen sind, so daß sie hantelförmige, gerade oder gekrümmte Figuren vorstellen (Fig. 40, 46, 47, 53). Mögen doch die Strukturen der bakterienförmigen Zellen noch so verschieden sein, wir finden zu jeder derselben ein Pendant unter den fadenförmigen Bakterien, die weiter oben beschrieben worden sind.

In den Fig. 41 und 42 sind Zellen abgebildet, die wieder verschiedenen Tinktionsgrad zeigen. In einzelnen Fällen, wo aus bekannten Gründen die Geschwindigkeit der Teilung nachgelassen hat, begegnen wir Kernen, die aus einer deutlichen Kernmembran und einzelnen Chromosomen bestehen, so z. B. Fig. 39a, 43 (die rechte Zelle), 46 (eine zweikernige Zelle). In Fig. 49 habe ich vorübergehend ein Paar sporentragender, beweglicher Stäbchen abgebildet — deren Struktur mit den von mir früher für die symbiotischen Bacillen beschriebenen vollkommen übereinstimmt.

In einem Falle, Fig. 50 waren die einzelnen Zellen eigentümlich gruppiert ( $\alpha$ ), und die Struktur derselben erinnert auffallend an das bereits Beschriebene und in Fig. 2 $\beta$   $\gamma$  und 27 Abgebildete. Die Fig. 60, 56, 57, 54, 55 haben den Zweck, die Verkleinerung der Zellen in den Zooglöen, durch die fortwährende Teilung bedingt, zu veranschaulichen. Schon in den einzelnen Repräsentanten verschiedener Zooglöen, wie sie in den Fig. 50 und 53 abgebildet sind, sehen wir manche Individuen, die sich durch ihre verlängerte Form und ihre homogene Färbung auszeichnen. Diese Gebilde entstehen direkt aus den bakterien- oder bacillenförmigen, in den Zooglöen enthaltenen Zellen. Fig. 51, hauptsächlich aber Fig. 61 gibt darüber sehr feste Aufschlüsse. In den zwei ersterwähnten Abbildungen finden wir je eine Zelle, die einen blaufärbten Streifen enthält — in Fig. 51 trägt derselbe noch eine chromatische Kugel. In Fig. 61 abgebildete Zellen ist ein Teil einer bedeutend größeren Zoogloea, die aus lauter ovalen Zellen bestand, die einen oder auch zwei komma-bacillusähnliche, der Seitenwand dicht anliegende Streifchen enthielten. Solche Streifchen, geradeso gefärbt, findet man in derselben Zoogloea auch bereits frei. Was

der Chromatinsubstanz entspricht, kann ich leider nicht entscheiden. Ob die ganzen Streifchen Chromatin vorstellen, läßt sich nach den bereits beschriebenen Tatsachen, wo, die Chromatinsubstanz immer scharf von den anderen Zellbestandteilen differenziert geblieben ist, kaum feststellen. Es ist vielmehr die chromatische Substanz in diesen Stadien von solcher Beschaffenheit, daß sie die Farbe, mindestens die von mir angewandte, nicht annimmt.

Es brauchen aber diese merkwürdigen Gebilde nicht gerade verlängert zu sein. Wenn die Teilung zu weit vorgeschritten ist in ihren Mutterzellen, können sie nur bloße coccusartige Kugeln darstellen, die dieselben Tinktionsverhältnisse wie die verlängerten Formen beibehalten. Beide Sorten dieser Keime sind in Fig. 62 gleichzeitig mit ihren Mutterzellen abgebildet. In derselben Figur sieht man aufs deutlichste, wie sich diese Keime weiter entwickeln. In einzelnen Fällen sieht man, daß die Keime bereits zwei oder mehrere, nur weniger dunklere Kügelchen — die Kerne — enthalten, wogegen ein anderes Individuum bereits zwei schwarzblaue Kerne trägt (links). In einem Falle ist der Keim bereits in einen Faden hervorgewachsen, der viele große Kerne auf einer Seite, drei kleinere auf der anderen Seite trägt. Der die großen Kerne tragende Teil ist hyalin, fast ungefärbt geblieben, wogegen der andere die ursprüngliche blaue Verfärbung beibehalten hat. Man könnte diese Sachen, von denen ich beispielsweise nur wenige abgebildet, massenhaft in einer und derselben Zoogloea in verschiedenen Entwicklungsstufen vorfinden.

Diese Verhältnisse, obzwar überraschend und merkwürdig, lassen sich, dank dem reichlichen und gleichzeitigen Vorkommen aller Stadien auf einmal, aufssicherste feststellen, so daß irgend ein Irrtum oder eine falsche Deutung hier völlig ausgeschlossen ist.

Das letzte Stadium, das in der Fig. 63 vorgeführt ist, führt uns zu den gleich anfangs behandelten Fadenbakterien. Es sind wachsende junge Fäden, in denen sich das Protoplasma durch Assimilation von außen her angesammelt und wo auch die Scheide sich bereits zu entwickeln beginnt. Die Teilung der Kerne geschieht ebenfalls direkt, dies ist ersichtlich an einer hantelförmigen Figur.

Damit sind meine Beobachtungen zum Abschlusse gelangt — und trotzdem ich mehr zu erreichen gedachte, glaube ich doch, daß auch die in dieser unvollendeten und unvollkommenen Abhandlung sich darbietenden Tatsachen mindestens ein reges Interesse erwecken werden — und wenn dies geschieht, werde ich doch nicht ganz bereuen, daß ich es gewagt, einen bloßen Torso, ohne guten Zusammenhang, ohne klar zu wissen, zu welchen Arten die von mir beschriebenen Stadien gehören, mit allen den mir gut bekannten schwachen Seiten der Oeffentlichkeit zu übergeben.

Ich will nicht an dieser Stelle auf die von R. Hertwig aufgestellte, von Goldschmidt u. a. verteidigte Chromidientheorie näher eingehen — es scheint aber, daß dieselbe mindestens für Bakterien ganz unzulänglich ist — und wenn es bei den Bakterien der Fall ist, desto früher wird diese Theorie für höhere Lebewesen nicht ganz annehmbar erscheinen. Diese Bemerkung sei jedoch nur als eine Vermutung angesehen — ein sicheres Urteil zu fällen, überlasse ich gerne anderen, mehr dazu Berufenen.

**Tafelerklärung.**

Sämtliche Figuren sind mittels eines Zeiss'schen Zeichenapparates aufgenommen und dann zweimal vergrößert worden. Die erste Abbildung ist bei Apochromat-Immersion 2,0, Apert 1,30 und Ocular 4 (Zeiss) gemacht worden. Während der Reproduktion sind die ursprünglichen Tafeln auf drei Viertel verkleinert worden. Die beiliegenden Tafeln zeigen die Bakterien, da die Vergrößerung bei Apochr.-Immers. 2,0, Okular 4, Tubuslänge 160 mm, auf dem Arbeitstische gezeichnet, etwa 1400 beträgt,  $2.1400 \cdot \frac{3}{4} = 2100$  mal vergrößert.

Prag, den 9. August 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Die Rostbildung in den Wasserleitungsröhren.

Von Dr. B. Schorler, Dresden.

Es ist eine allgemein bekannte Tatsache, daß die eisernen Röhren in manchen Wasserleitungen eine so starke Rostbildung aufweisen, daß ihre lichte Weite außerordentlich verringert wird, ja daß die Röhren vollständig verstopft werden. In Wasserwerken, die mit der *Crenothrix* zu kämpfen haben, hat man diese Verstopfung vielfach der „Brunnenpest“ zugeschrieben. Das tat man auch in Dresden. Die Stadt entschloß sich daher, die Röhren nach dem Nowotnyschen Verfahren reinigen zu lassen. Es wurde zunächst am 8. März 1905 zur Erprobung des Verfahrens eine 1000 m lange und 10 cm weite Rohrleitung gereinigt. Von dem hierbei erhaltenen Rostmaterial wurde mir eine Probe zur mikroskopischen Untersuchung übergeben. Da die bei der Untersuchung gewonnenen Resultate, wie ich glaube, von allgemeinem Interesse sind, so gebe ich hier diese kurze Mitteilung als Ergänzung meiner in dieser Zeitschrift veröffentlichten Arbeit über Eisenbakterien<sup>1)</sup>.

Das erste Wasserwerk der Stadt Dresden wurde am 2. März 1875 in Betrieb gesetzt. Das Rohrnetz und auch die jetzt gereinigte Strecke liegt also gerade 30 Jahre. Ein 10 cm weites Rohr, das aus dem Netz herausgenommen worden war, hatte einen Rostbelag von durchschnittlich 3 cm Dicke, so daß die lichte Weite nur 4 cm und an manchen Stellen noch weniger betrug. Die Rostschicht ist von ungleicher Dicke, eine glatte innere Oberfläche niemals vorhanden, überall springen kleinere und größere Höcker, ja sogar fingerartige Fortsätze nach innen vor. Die Rostmassen haben im feuchten Zustande eine dunkelbraune Farbe, trocken sind sie rostrot, gelb abfärbend. Sie lassen sich verhältnismäßig leicht zerbröckeln und auch leicht von der Rohrwandung ablösen. Hat man letzteres getan, so zeigt sich die Rohrwandung vollkommen intakt, sie ist nicht angefressen oder korrodiert, ja sogar die schwarze Asphalt-schicht, mit der die Wasserleitungsröhren gewöhnlich ausgekleidet werden, ist noch vorhanden. Die Röhren selbst haben also in den 30 Jahren trotz der dicken Rostkruste keinen Schaden gelitten. Wir haben es demnach hier nicht mit rostendem Eisen zu tun, sondern mit einer Rostauflagerung, einer Rostinkrustation, die aus dem durchfließenden Wasser abgesetzt wird und mit der Ablagerung von kohlensaurem Kalk in Parallele gesetzt werden kann.

Bei dieser Sachlage ist es nun von großer Bedeutung, daß wir durch

1) Bd. XII. 1904. No. 22/24. p. 681—695.





Sämtliche  
und dann zwe  
sion 2,0, Apert  
tion sind die  
Tafeln zeigen  
Tubuslänge 1  
2.1400.  $\frac{3}{4} = 2$

Prag,

## Die

Es ist e  
in manchen  
ihre lichte V  
vollständig v  
zu kämpfen  
pest“ zugese  
schloß sich  
reinigen zu  
des Verfahr  
reinigt. Vo  
Probe zur  
Untersuchun  
Interesse sin  
meiner in  
terien<sup>1)</sup>.

Das ers  
in Betrieb  
liegt also g  
herausgenom  
lich 3 cm  
Stellen noch  
eine glatte i  
und größere  
Rostmassen  
trocken sin  
mäßig leich  
Hat man  
intakt, sie  
Asphaltschi  
werden, is  
30 Jahren  
haben es d  
einer Rosta  
Wasser abg  
in Parallele  
Bei die

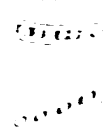
1) Bd. N

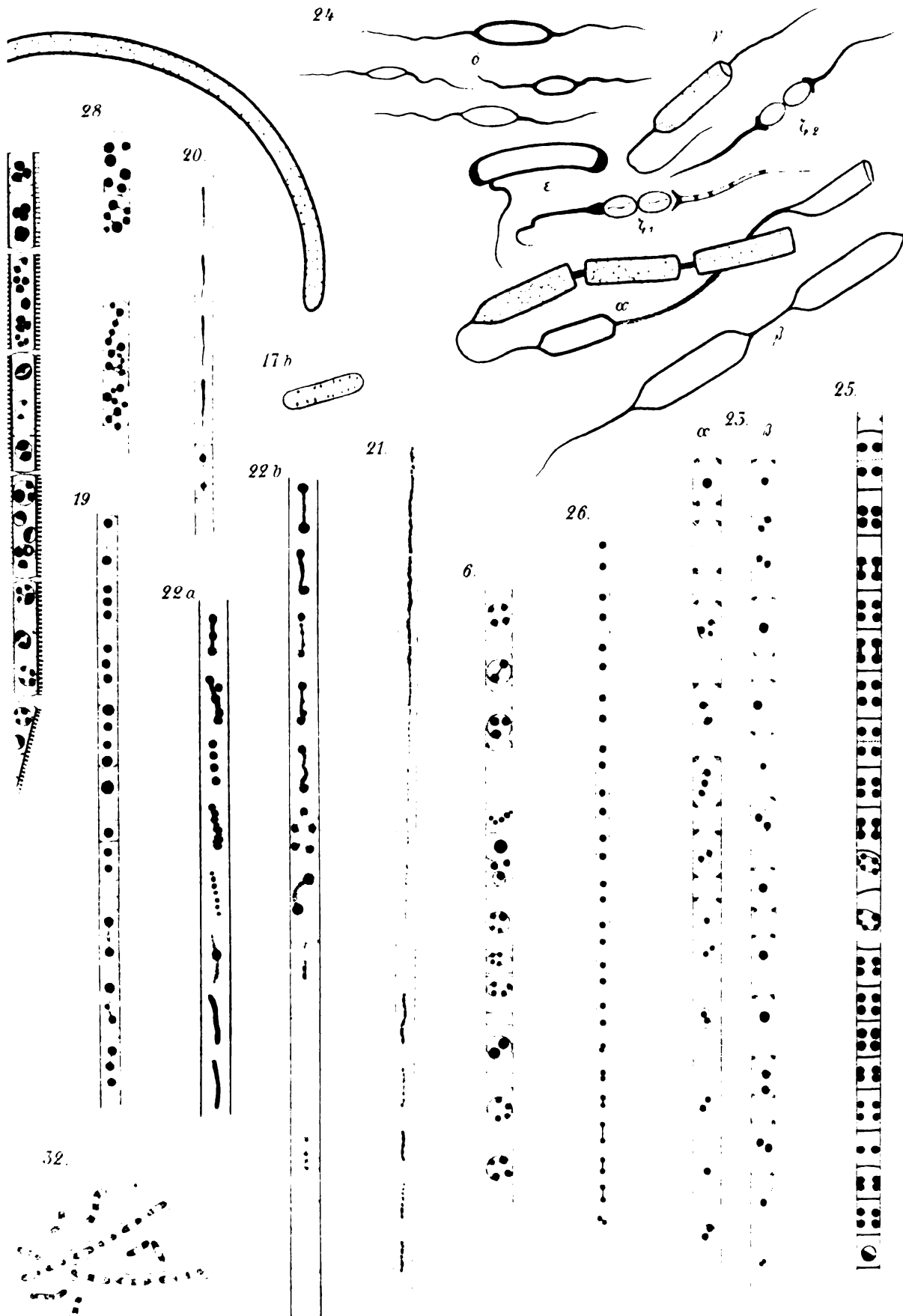
17.

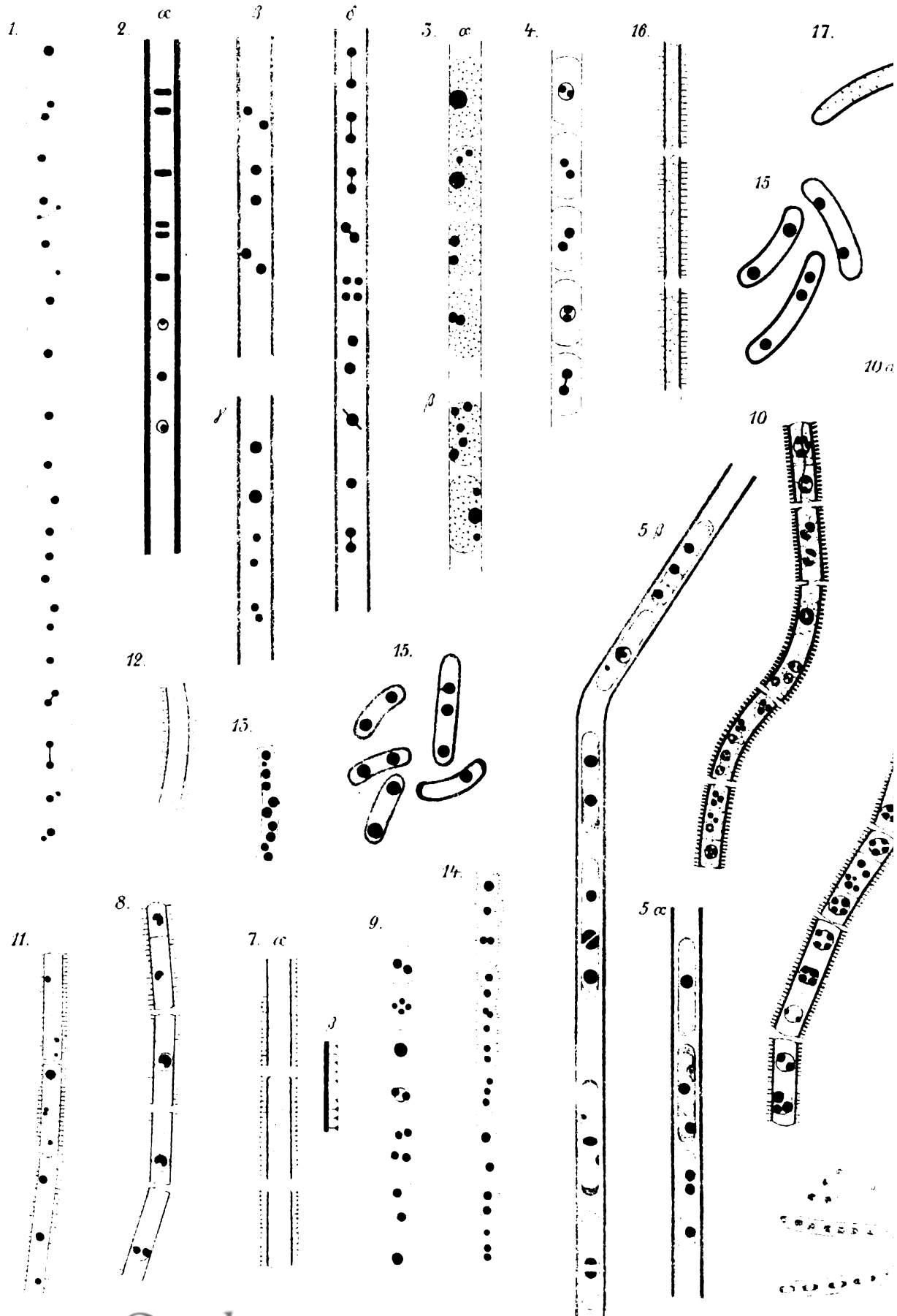
==  
==  
==

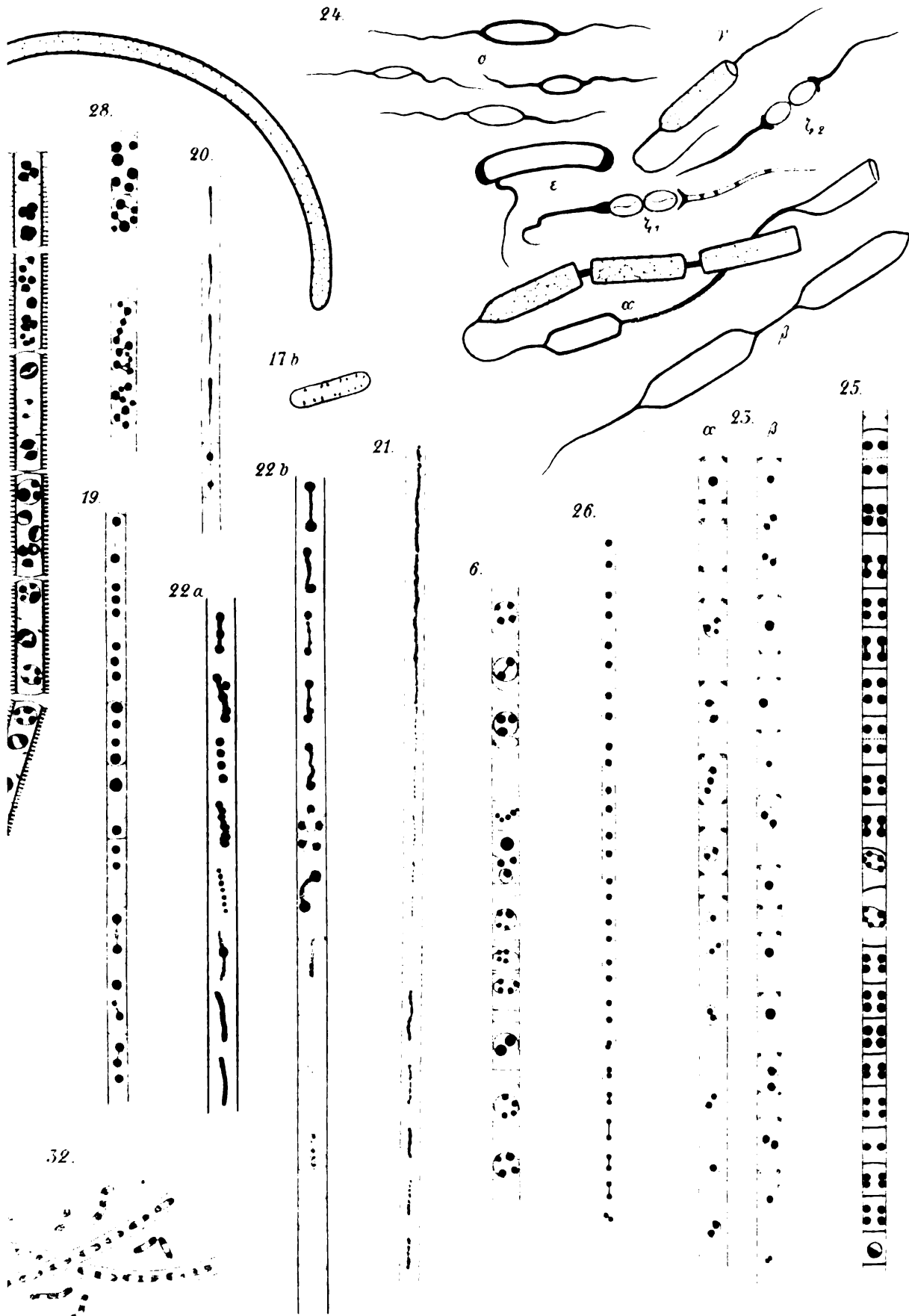


18.



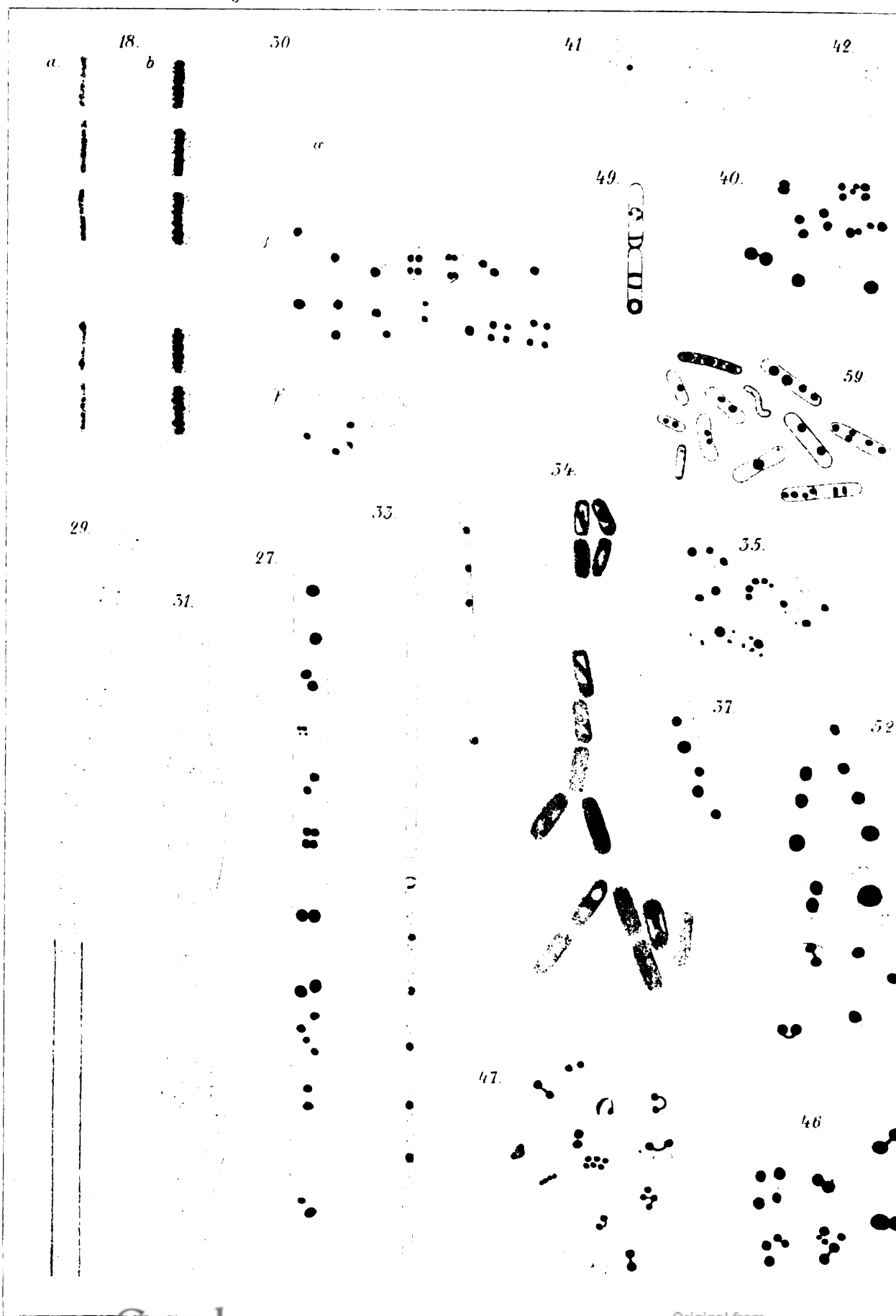




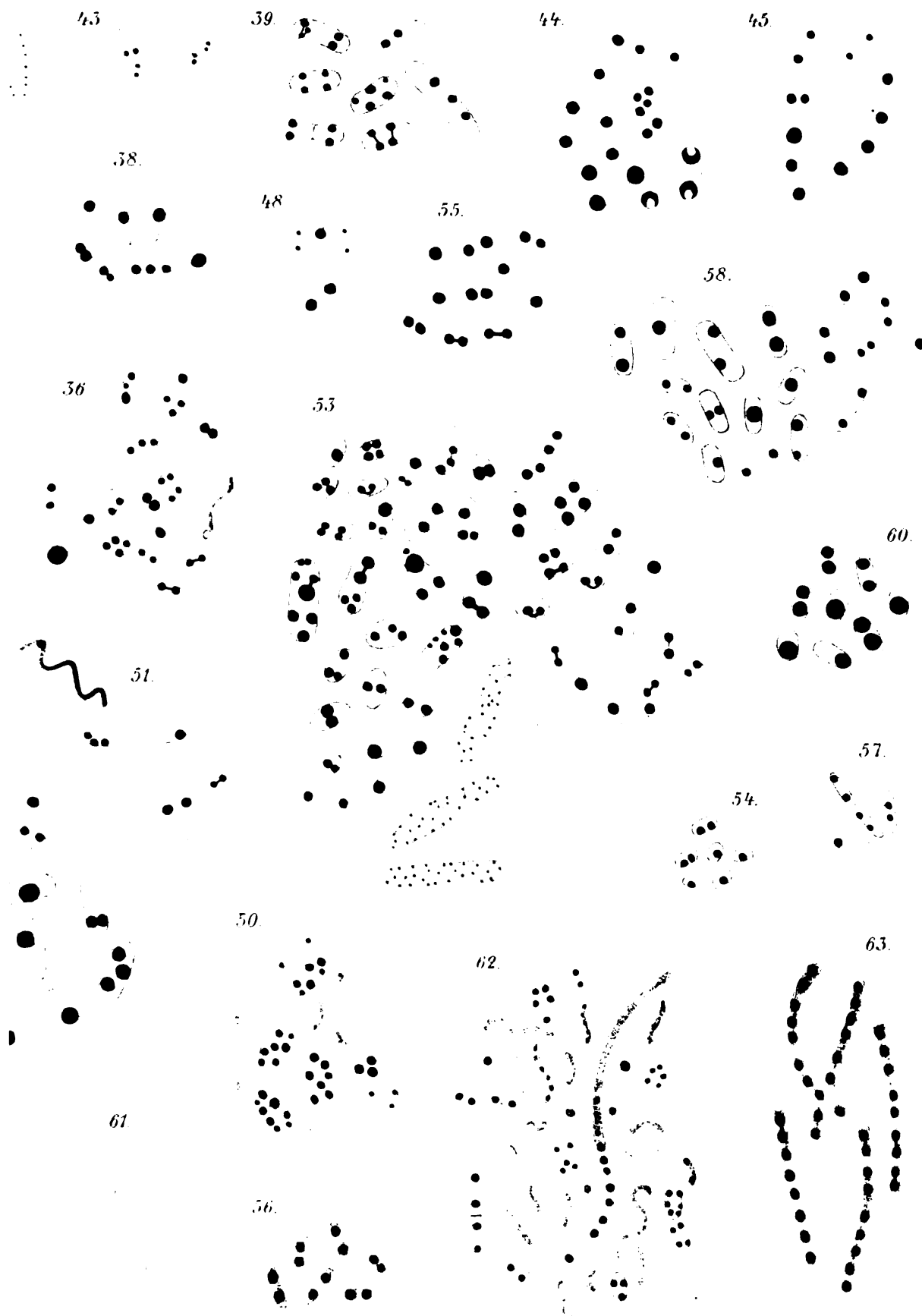














die Erfindung Nowotnys seit wenigen Jahren einen einfachen, leicht handlichen, überall verwendbaren Apparat zum Reinigen auch der Wasserleitungsröhren besitzen, der die Rost- und anderen Inkrustationen in den Röhren gründlich beseitigt, daher den Ersatz solcher Röhren durch neue unnötig macht und so den Städten große Kosten erspart. Der Apparat kann deshalb allen Gemeinden mit Wasserleitungen, deren Wasser mehr oder weniger eisenhaltig ist, zur Anwendung nicht warm genug empfohlen werden<sup>1)</sup>. Auch bei der Probereinigung durch die Stadt Dresden am 8. März dieses Jahres hat sich der Apparat auf das trefflichste bewährt. Es wurde das 1000 m lange und 10 cm weite Leitungsrohr in einer knappen Stunde tadellos gereinigt. Die Masse der herausbeförderten Rostbrocken betrug ca. 5 cbm. Die Innenwand der gereinigten Rohrstrecke unterschied sich im Aussehen kaum von dem neuer Rohre.

Die mikroskopische Untersuchung der Rostbrocken ergab die folgenden Resultate. Schabt man von den frischen noch nassen Rostbrocken die oberste leicht abwischbare Schicht ab und untersucht sie unter dem Mikroskop bei starker Vergrößerung, so sieht man neben den kleinen unregelmäßig eckigen Partikelchen, die keinerlei organische Struktur aufweisen, häufig kurze Fadenbruchstücke von 2—5  $\mu$  Dicke und 18 bis 60  $\mu$  Länge und gelber oder brauner Farbe, die sämtlich der Eisenbakterie *Gallionella ferruginea* Ehrbg. angehören. Ihr merkwürdiges massenhaftes Auftreten an solchen Stellen ist bereits in meiner ersten Arbeit beschrieben worden. Die Fäden sind meist etwas gebogen. Die schwächeren Stücke lassen einen inneren hellen wenig geschlängelten Kanal und einen äußeren dunkleren Mantel erkennen. Es sind einfache *Gallionella*-Fäden mit Eisenoxydhydratinkrustation. Die stärkeren bis 5  $\mu$  dicken Bruchstücke rühren von zwei zopfig umeinander geschlungenen Fäden her. Sie zeigen entweder deutlich den Zopf, oder nach innen eine dunkelbraune fast schwarze, perlschnurähnliche Linie, welche die goldbraunen Doppelfäden einschließen und zu äußerst den dunkelbraunen Mantel von Eisenoxyd, das in den Scheiden der Fäden reichlich aufgespeichert ist. Selten sind solche Fäden, bei denen der Rostmantel so dick ist, daß man im Innern gar nichts mehr erkennen kann. Die Schlängelung der Fäden oder ihr zopfiger Aufbau unterscheiden diese Bruchstücke sofort von den anderen Eisenbakterien, von der *Crenothrix* und ihren Verwandten.

Hat man trockene Rostbrocken zur Untersuchung vor sich, so zeigen diese zwar auch noch an der Oberfläche das gelbbraune abwischbare Mehl, aber dieses läßt unter dem Mikroskop viel seltener die intakten typischen *Gallionella*-Fäden und Zöpfe erkennen. Es scheinen diese beim Eintrocknen sehr spröde zu werden und leicht in kleinste Bruchstücke und Kettenglieder zu zerfallen. Solche trifft man in den Präparaten reichlich, aber das Auge muß sich bereits am Anblick frischen Materials geschärft haben, wenn man sie als der *Gallionella* zugehörig erkennen soll.

Höchst merkwürdig ist es nun, daß man in den festen Parteen auch der noch feuchten Rostbrocken, auf deren Oberfläche die *Gallionella* oft in Massenvegetation wuchert, von ihr nicht das ge-

1) Der Apparat ist beschrieben u. a. in der „Gesundheit“, hygien. u. gesundheits-techn. Zeitschr. Jahrg. XXIX. 1904. No. 14. p. 506. Das Patent hat die Deutsche Röhren-Reinigungsgesellschaft Otto Mierisch & Co. Dresden-A. erworben.

ringste wahrnehmen kann. Schabt man sich von den festen Teilen ein zur mikroskopischen Untersuchung geeignetes Pulver ab, so setzt sich dieses aus lauter scharfeckigen und kantigen hell- bis dunkelbraunen und schwarzen anorganischen Partikelchen zusammen. Die dünnen Fäden und charakteristischen Ketten der *Gallionella* fehlen gänzlich. Man muß lange suchen, ehe man ein ganz kurzes, stark inkrustiertes Bruchstück mit einem inneren Kanal erblickt oder ein solches aus einem schwarzen Klumpen hervorragen sieht. Wo kommen also die zahlreichen Fäden der Oberfläche beim Dickerwerden der Rostkruste hin?

Ich erhielt darüber erst Aufschluß, als ich das in einer Vertiefung der Rostbrocken abgelagerte lockere Rostmehl, in dem makroskopisch einzelne glänzende Punkte zu erkennen waren, untersuchte. Hier waren ältere *Gallionella*-Fäden mit braunem Rostmantel vorhanden. An einzelnen dieser alten Fäden setzten sich nun seitlich ein oder mehrere Täfelchen von rundlicher oder eckiger Form an. Ihre Größe ist wechselnd. Sie sind entweder nur so groß, als der Faden dick ist, und erscheinen dann wie kleine Höcker auf diesem. Oder sie sind ebenso groß wie das ganze Fadenbruchstück, so daß dieses die Tafel an der einen Seite begrenzt. In letzterem Falle ist ihre Form sehr deutlich die eines halben regelmäßigen Sechseckes von 33–144  $\mu$  Durchmesser. Da sich nun in den Präparaten auch häufig vollständig ausgebildete goldbraun glänzende sechseckige Kristalltäfelchen fanden, so untersuchte ich dieselben ebenfalls näher und konnte, wenn auch nur selten deutlich erkennbar, *Gallionella*-Fäden in ihnen nachweisen. Die eingeschlossenen Fadenbruchstücke sind gerade oder gebogen, einfach oder zopfig, wie die freien Fäden auch. Haben die Tafeln erst eine gewisse Dicke erreicht, was sich schon durch die Aenderung der goldbraunen Farbe in ein dunkles Braun zu erkennen gibt, so werden sie undurchsichtig, und von den *Gallionella*-Fäden in ihnen ist dann nichts mehr zu erkennen, auch nicht in den Bruchstücken der Tafeln, die sich leicht bilden, da letztere sehr zerbrechlich sind.

Die Kristalle sind also, wie schon erwähnt, sechseckige Täfelchen, gehören demnach dem hexagonalen System an und stellen die Kristallform OR dar. Sie sind den Eisenglanzkrystallen in dem Carnallit von Staßfurt sehr ähnlich, nur gelb und gelbbraun statt rot, zeigen aber zum Teil optische Anomalieen<sup>1)</sup>. Nach einer chemischen Analyse des Dresdner chemischen Untersuchungsamtes bestehen die Rostbrocken, wie mir der Direktor Herr Dr. Beythien mitteilte, aus fast reinem Eisenoxyd. Der Wassergehalt wurde bei der Analyse nicht berücksichtigt.

Die Bildung der Rostkrusten in den Wasserleitungsröhren dürfte demnach in folgender Weise vor sich gehen: Da das Eisen der Rohrwandung nicht korrodiert wird und vollkommen intakt bleibt, so kann es nicht das Material zu den großen Rostmassen liefern. Dieses muß im Gegenteil durch das Leitungswasser zugeführt werden. Obgleich nun das Dresdner Leitungswasser verhältnismäßig arm an Eisen ist (0,20–0,30 mg pro Liter Wasser), so reicht der geringe Gehalt doch hin, um die Röhren in 30 Jahren mit einer 3 cm dicken Rostschicht auszutapezieren. Aber die Rostinkrustationen würden ohne die *Gallionella* nicht möglich sein. Diese siedelt sich zuerst auf der inneren

1) Diese Angaben verdanke ich Herrn Prof. Dr. E. Kalkowsky an der Technischen Hochschule zu Dresden.

Asphaltschicht der Röhren an und wächst hier zu Fäden oder Fadenbüscheln heran. Sie nimmt das gelöste doppeltkohlensaure Eisenoxydul des Wassers auf, oxydiert es zu Eisenoxyd und erhält dadurch die nötige Lebens- und Wachstumsenergie. Das Oxydationsprodukt aber, das Eisenoxydhydrat, wird ausgeschieden, in der Scheide der Fäden abgelagert und häuft sich hier zu einem mehr oder weniger dicken Mantel an. Und selbst wenn man die Winogradskysche Ansicht von der Oxydation des gelösten Eisenoxyduls durch den Lebensprozeß der Eisenbakterien, welcher ich zustimme, nicht für richtig hält und ein nur mechanisches Aufspeichern des Eisens in den gallertartigen Scheiden annimmt, wobei allerdings die Oxydation des Eisenoxyduls zu Oxyd vollkommen unverständlich bleibt, müßte man immerhin die *Gallionella* als die Hauptursache der Rostablagerung in den Wasserleitungsröhren betrachten.

Sobald der Rostmantel um die *Gallionella*-Fäden eine gewisse Dicke erreicht hat, gehen, vielleicht Hand in Hand mit Veränderung der Scheide selbst, molekulare Umlagerungen in ihm vor sich. Es hebt an seiner Peripherie eine Kristallisation an, die entweder zur Ausbildung mehr oder weniger vollkommener hexagonaler Täfelchen führt, oder die zahlreich angelegten Kristalle benachbarter Fäden verwachsen miteinander und bilden mit diesen formlose Aggregate. So entstehen undurchsichtige Klumpen, aus denen zuweilen noch vereinzelte *Gallionella*-Fäden hervorragen. Mag nun die Veränderung so oder so vor sich gehen, in beiden Fällen werden die *Gallionella*-Fäden der mikroskopischen Beobachtung entzogen. Und dadurch erklärt sich ungezwungen, warum in den festen Teilen der Rostbrocken keine *Gallionella*-Fäden mehr nachweisbar sind.

Die nachträgliche molekulare Umlagerung und Kristallisation des durch die *Gallionella* erzeugten Eisenoxydhydrates macht es übrigens auch, meines Erachtens, wahrscheinlich, daß Raseneisenstein und seine Verwandten, in denen man noch niemals Eisenbakterien hat nachweisen können, trotzdem durch die Tätigkeit solcher, besonders der *Chlamydothrix ochracea* Mig., entstanden sind. Diese Ansicht ist ja schon von verschiedenen Seiten geäußert worden, hat aber immer wieder, eben wegen des Mangels von Eisenbakterien in diesen Mineralien, Widerspruch hervorgerufen. Ich habe Raseneisenerz von Pulsnitz in Sachsen aus der mineralogischen Sammlung der Technischen Hochschule-Dresden untersucht, ohne eine Andeutung von Eisenbakterien auffinden zu können. Dagegen zeigte der gelbe, kugelige Eisenocker von Mockritz bei Dresden aus derselben Sammlung wenigstens vereinzelt fädige Bildungen mit rauher, körniger Oberfläche, die möglicherweise von solchen herrühren könnten. Ich wage das jedoch noch nicht zu entscheiden.

Schutzmaßregeln gegen die Entstehung der *Gallionella*-Wucherungen werden sich schwerlich anwenden lassen. Ihre Verbreitung ist zwar heute noch ungenügend bekannt, doch zweifle ich nicht, daß sie in allen Wasserwerken mit einem gewissen Eisengehalt im Wasser anzutreffen sein wird. Ich hatte in der letzten Zeit Gelegenheit, außer den Dresdener Ablagerungen noch solche aus den Wasserleitungen von Bernburg, Diez a. L., Essen (Kruppsche Leitung), Frankfurt a. M. und Teplitz untersuchen zu können, von denen mir Proben von der Deutschen Röhrenreinigungsgesellschaft bereitwilligst zur Untersuchung zur Verfügung gestellt worden waren. Das Aussehen dieser Proben stimmt keineswegs immer mit denen der Dresdner Leitung überein. Die Tep-

litzer z. B. sind flache, rotbraune Krusten, die bei der Behandlung mit Salzsäure aufbrausen, also wohl kohlensauen Kalk enthalten. Und die Bernburger bestehen gar aus einem schwarzen Pulver. Trotz des verschiedenen Aussehens konnte ich *Gallionella* in allen diesen Ablagerungen nachweisen, wenn auch in wechselnden Mengen. Merkwürdig sind besonders die Bernburger Proben. Sie bilden trocken ein schwarzes, wie Schnupftabak aussehendes Pulver, das in der Hitze sich nicht verändert und, wie eine Schmelzprobe mit Salpeter und Soda zeigt, reichlich Mangan enthält, also wohl durch *Crenothrix*-Wucherungen zu stande gekommen sein muß. Trotzdem ist von dieser in den mikroskopischen Präparaten absolut nichts zu sehen. Es scheinen auch hier an alten Fäden nachträglich molekulare Umlagerungen wie bei *Gallionella* einzutreten. Wenn nun auch die Entstehung aller dieser Massen in den Wasserleitungsröhren nicht verhindert werden kann, so ist doch jetzt ihre gründliche Beseitigung durch den Nowotnyschen Röhrenreinigungsapparat leicht zu ermöglichen, und es können daher Verstopfungen solcher Röhren, wie sie schon vorgekommen sind, in Zukunft völlig ausgeschlossen werden.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Selbsterhitzung des Heues.

[Mitteilungen aus der bakteriologischen Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation Hoorn in Holland.]

Von **F. W. J. Boekhout** und **J. J. Ott de Vries**.

In unseren vorigen Beiträgen über die Selbsterhitzung des Heues (Abt. II. Bd. XII. p. 675) wurden verschiedene Beweise beigebracht, welche zu der Schlußfolgerung führten, daß die Ursache dieser Erscheinung nicht auf Bakterientätigkeit, sondern auf einem chemischen Prozeß beruht. In folgendem wollen wir einige weitere Beiträge zu dieser Frage liefern, welche an unsere vorigen Versuche anschließen, und dabei anfangen mit unseren Untersuchungen über die Gasbildung.

Im vorigen Berichte wurde der Gasbildung als solcher nur wenig Aufmerksamkeit gewidmet. Nur teilten wir mit, daß die Zusammensetzung des Gases aus einem Diemen, welcher Selbsterhitzung erzeugte, die folgende war:

7	Proz.	CO <sub>2</sub>
12,4	„	O <sub>2</sub>
30,6	„	N <sub>2</sub>

Aus dem Verhältnis dieser Gasmengen konnte abgeleitet werden in Beziehung mit der Zusammensetzung der Atmosphäre, daß Sauerstoff verschwunden war oder besser, daß Sauerstoff in nicht gasförmigem Zustande festgelegt worden war. Damals blieb ebenfalls die Frage außer Betracht, ob die Kohlensäure das Produkt der Erhitzung selber oder die Folge anderer Erscheinungen sei. Hier war also eine offene Frage zu lösen, welche nähere Untersuchungen notwendig machte. Auch hierzu verwendeten wir wiederum den in der vorigen Abhandlung erwähnten Apparat zur Nachahmung der Selbsterhitzung, auf deren Details wir nach dieser Beschreibung hinweisen. Die Blechbüchse wurde aufgefüllt mit Wegerichblättern (*Plantago lanceolata*), weil diese Pflanze sehr bald in den Zustand

der Selbsterhitzung übergeht und also eine stärkere Reaktion gibt, als die übrigen Pflanzen, welche in getrocknetem Zustande das Heu bilden. Sollte also durch die Selbsterhitzung  $\text{CO}_2$  auftreten, so wäre diese Gasbildung in stärkerem Maße bei diesem Kraute zu erwarten, als bei den anderen Pflanzenarten im Heu. Die Ausführung des Versuches der Selbsterhitzung geschah genau in derselben Weise, wie früher bei dem Heu. Nachdem die Blätter einige Zeit erhitzt waren (auf etwa  $90^\circ \text{C}$ ), wurde mittels eines Kautschukschlauches durch einen der beiden Hähne in eine Hempelsche Burette Gas abgesogen. Ein Teil des also erhaltenen Gases wurde durch starke Lauge absorbiert, z. B.:

Von 97,6 ccm Gas wurden absorbiert 34,8 ccm

"	99,8	"	"	"	"	38,8	"
"	60,3	"	"	"	"	47,0	"
"	99,9	"	"	"	"	88,2	"

Die Bildung von Kohlensäure lag also auf der Hand; die Möglichkeit war aber nicht ausgeschlossen, daß auch andere Gase, wie Ameisensäure, vertreten waren. Ameisensäure gehört ja gleichfalls zu den Körpern, welche bei der Selbsterhitzung des Heues auftreten und das eventuelle Vorfinden derselben im Gase muß also als möglich betrachtet werden. Zur Entscheidung dieser Frage wurde die erste Absorption nicht mit Kalilauge, sondern mit Barytlösung von bekannter Stärke ausgeführt, z. B. mit 200 ccm  $\frac{1}{20}$  normalem  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  und mit dieser Lösung eine Hempelsche Pipette gefüllt. Das Gas wurde darin mit dieser Lauge wiederholt tüchtig geschüttelt, so lange, bis keine Volumenveränderung mehr beim Ueberhebeln in der Burette zu konstatieren war. In der Pipette war ein starker Niederschlag gebildet, was die Gegenwart von Kohlensäure zeigte. Das Baryumkarbonat wurde abfiltriert und 500 ccm des Filtrates titriert zur Bestimmung des freien Baryts. Also konnte der von Kohlensäure und Ameisensäure gebundene Teil des Baryts berechnet werden.

Zur Bestimmung des Baryumhydroxyds, welches durch Ameisensäure gebunden war, bestimmten wir den totalen Baryumgehalt des Filtrates als Baryumsulfat; dieser Baryumgehalt, vermindert mit dem Baryumgehalt im freien Baryt, gibt das Baryum an Ameisensäure gebunden als lösliches neutrales ameisensaures Baryum. So ergab eine Untersuchung:

50 ccm $\frac{1}{20}$ n waren ursprünglich	25 ccm $\frac{1}{10}$ n
50 ccm Filtrat titrierten nach Absorption	14,3 " $\frac{1}{10}$ n
Gebunden durch Kohlensäure und Ameisensäure	10,7 ccm $\frac{1}{10}$ n
10,7 ccm $\frac{1}{10}$ n Baryt enthalten	73,295 mg Ba
50 ccm Filtrat gaben 172 mg $\text{BaSO}_4$ oder	101,1 " "
50 " " titrierten 14,3 ccm $\frac{1}{10}$ oder	97,6 " "
Also an Ameisensäure gebunden	3,5 mg Ba

welche Menge übereinstimmt mit 2,35 mg Ameisensäure. An Kohlensäure war also gebunden 73,295 mg Ba — 3,5 mg Ba = 69,795 mg Ba übereinstimmend mit 22,4 mg  $\text{CO}_2$ . Diese Zahlen gelten für 50 ccm  $\frac{1}{20}$  n Baryt, also für  $\frac{1}{4}$  des Inhaltes der Hempelschen Pipette. In den ursprünglichen 100 ccm Gas, welche zur Untersuchung kamen, befand sich also die 4-fache Menge Kohlensäure und Ameisensäure: 89,6 mg resp. 9,4 mg, d. i. im Verhältnis 9,5:1. Diese Zahl ist aber nicht konstant, in einem zweiten Falle fanden wir z. B. 68,9 mg Kohlensäure und 3,1 mg Ameisensäure, also ein Verhältnis von 22,2:1. Es zeigte sich folglich, daß weitaus der größte Teil der von Barytwasser gelösten Gase

aus Kohlensäure besteht. Außer Kohlensäure und etwas Ameisensäure werden keine anderen Gase gebildet; dies geht aus der gewöhnlichen Analyse hervor, welche folgendes zeigte:

Gebraucht 100 ccm Gas	
Nach Absorption mit Kalilauge	54,9 ccm
Absorbiert Kohlensäure und Ameisensäure	45,1 "
Absorption in Pyrogallollösung	.
Vor der Absorption	54,9
Nach " "	54,9
Absorbiert	0

Sauerstoff ist also abwesend.

Absorption in $\text{Cu}_2\text{Cl}_2$ -Lösung	
Vor der Absorption	54,9
Nach " "	54,9
Absorbiert	0

Kohlenoxyd fehlt.

Zur Explosion gebraucht 12,3 ccm mit Luft angefüllt zu 50,9 ccm. Beim Ueberspringen des Funkens fand keine Explosion statt.

Aufgefüllt mit Wasserstoff zu 60,1 ccm	
Gasmischung	50,9 "
Wasserstoff zugesetzt	9,2 ccm

Explosion erfolgt nach Ueberspringen des Funkens.

Ursprüngliches Volumen	60,1 ccm
Nach Explosion	46,3 "
Verschwunden	13,8 ccm

Das verschwundene Volumen stimmt überein mit  $13,8 \times \frac{2}{3} = 9,2$  ccm

Wasserstoff, also mit der zugesetzten Menge Wasserstoff, und folglich befindet sich kein Wasserstoff oder in dem Gas entstandenes Methan, bei der Selbsterhitzung dagegen eine Mischung von Kohlensäure, Ameisensäure und Stickstoff. Das Fehlen des Sauerstoffes gibt noch Veranlassung zu einer kleinen Betrachtung. Ursprünglich war die Rotationsbüchse gefüllt mit atmosphärischer Luft, enthaltend etwa 21 Proz. Sauerstoff. Wenn also der Sauerstoff im Gase der Büchse fehlt, so folgt hieraus, daß entweder der Sauerstoff verbraucht ist zur Kohlensäurebildung oder in irgend einer anderen Form festgelegt worden ist. Diese Tatsache führt zu der Bemerkung, daß unsere bisherige Methode zur Nachahmung des Prozesses der Selbsterhitzung nicht ganz im Einklange steht mit den natürlichen Verhältnissen. In einem Heudienen, welcher der Selbsterhitzung unterlegen ist, befindet sich, wie früher schon erörtert, ein bedeutender Gehalt an Sauerstoff; dieser kann bei der Reaktion einen starken Einfluß ausüben, welcher in der Rotationsbüchse, wie sie jetzt eingerichtet ist, in der Hauptsache fehlt, weil kein neuer Sauerstoff eintreten kann, wenn dieser in der Büchse einmal verbraucht ist. Vielleicht muß man hierin den Grund suchen, weshalb es bisher nicht gelang, eine pyrophore Masse herzustellen. Sogar nach einem 3-monatlichen Aufenthalt in der Rotationsbüchse entstand kein Produkt, welches Selbstentzündung zeigte. Die Zusammenstellung dieses Produktes war folgende:

Asche	17,6 Proz.
Eiweiß	11,5 "
Pentosane	4,4 "



Rohfaser	56,3 Proz.
Aetherextrakt	3,2   "
N-freie Extraktstoffe	7,0   "

Aus dieser Analyse im Vergleich mit dem normalen Pentosanen- und N-freien Extraktstoffgehalte des Heues (25 Proz. resp. 16 Proz.) geht hervor, daß der Pentosanengehalt stark vermindert ist, während der Gehalt an N-freien Extraktstoffen bis über die Hälfte reduziert worden ist. Der totale durch die Gasbildung hervorgerufene Verlust ist sehr bedeutend und wird durch den folgenden Versuch illustriert. Am 20. Oktober 1904 wurde die Büchse mit 236 g Heu gefüllt, dessen Trockensubstanz 83,7 Proz. betrug, und dieses wurde im Rotationsapparat behandelt. Am 10. November wurde die Büchse geöffnet: Die Masse wog alsdann 165 g und hatte einen Trockensubstanzgehalt von 98,7 Proz. Im Anfange befanden sich also in der Büchse 197,5 g trockenes Heu und am Ende nur 161 g, folglich sind als Kohlensäure und Ameisensäure verloren 36,5 g, eine Menge, welche für diesen Zeitverlauf 18,5 Proz. des ursprünglichen Gewichtes entspricht.

#### Die zur Selbsterhitzung Veranlassung gebende Substanz.

Aus den früher mitgeteilten Versuchen geht hervor, daß die Selbsterhitzung des Heues ein chemischer Prozeß ist. Die verschiedenen Zersetzungsprodukte, welche dabei gebildet werden, verdanken also ihre Entstehung der Einwirkung in der Pflanze anwesender Substanzen aufeinander. Wir beobachteten das Verschwinden größerer Mengen Pentosane und stickstofffreier Extraktstoffe; die Substanz, welche diese Umänderungen bewirkt, ist dagegen unbekannt. Im folgenden werden wir einige Versuche beschreiben, welche die Erforschung dieser Substanz zum Zwecke hatten. Wir fingen an, ihre Löslichkeit in verschiedenen Lösungsmitteln zu studieren. Dazu wurden nacheinander genommen Wasser, Salzsäure und Natronlauge, eine Auswahl, die sozusagen in natürlicher Weise hervorging aus dem Verlauf der Versuche, welche mit diesen Stoffen einzeln vorgenommen wurden. Heu wurde so lange mit Wasser ausgekocht, bis keine Reaktion mit Fehlings Reagens mehr auftrat. Die Zusammensetzung dieses präparierten Heues war die folgende, berechnet auf Trockensubstanz:

Asche	3,3 Proz.
Eiweiß	8,0   "
Pentosane	31,4   "
Rohfaser	40,8   "
Roheiweiß	1,8   "
N-freie Extraktstoffe	14,7   "

Dieses Heu wurde nach vorheriger Trocknung in die Rotationsbüchse getan und während 4 Wochen in bekannter Weise behandelt. Es zeigte sich bei der Oeffnung der Büchse dunkel gefärbt, freilich nicht so schwarz wie nicht präpariertes Heu, und gab bei der Destillation Ameisensäure (Reduktion von  $\text{AgNO}_3$  zu Ag in neutraler Lösung). Die Analyse gab die folgende Zusammensetzung der Trockensubstanz:

Asche	3,5 Proz.
Eiweiß	8,1   "
Pentosane	18,6   "
Rohfaser	53,0   "
Rohfett	3,5   "
N-freie Extraktstoffe	13,3   "

Gleich wie bei gewöhnlichem Heu, gehen auch hier die Pentosane bedeutend zurück (12,8 Proz.) und der Rohfasergehalt (13,0 Proz.) steigt. Nur die Abnahme der N-freien Extraktstoffe bedeutet wenig: 1,4 Proz. Wahrscheinlich liegt der Grund dieser Erscheinung in der Tatsache, daß eben durch das Kochen mit Wasser ein großer Teil dieser Substanzen in Lösung geht und also der Reaktion entzogen wird. Der mikroskopische Durchschnitt dieses behandelten Heues gab nicht dasselbe Bild wie beim Heu, das durch Selbsterhitzung gelitten hat. Während beim letzten das Protoplasma schwarz gefärbt ist, war das Protoplasma des ausgelaugten und nachher behandelten Heues ungefärbt. Die schwarze Farbe scheint also hervorgerufen zu werden durch die Zersetzungsprodukte der wasserlöslichen stickstofffreien Extraktstoffe. Die Ergebnisse dieses Versuches sind also die folgenden:

1) Der Körper, welcher die Pentosane und N-freien Extraktstoffe zersetzt, ist nicht wasserlöslich.

2) Nur die wasserlöslichen stickstofffreien Extraktstoffe werden in bedeutender Weise angegriffen.

Aus der ersten Konklusion folgt sofort, daß alle wasserlöslichen Pflanzensäuren nicht die Ursache der Selbsterhitzung bilden können.

Nachdem dies konstatiert worden war, kochten wir eine neue Portion Heu, erst so lange mit Wasser, bis keine Fehlingsche Reaktion mehr im Dekokt zu konstatieren war, und darauf  $\pm$  3 Stunden mit 2-proz. Salzsäure. Nachdem die Salzsäure vollständig ausgewaschen war, wurde das Heu getrocknet und die Rotationsbüchse damit aufgefüllt. Die Zusammensetzung des also präparierten Heues war in der Trockensubstanz:

Asche	2,9 Proz.
Pentosane	12,5 "
Eiweiß	7,5 "
Rohfaser	64,5 "
Rohfett	3,8 "
N-freie Stickstoffe	8,8 "

Ebenso wie das mit Wasser extrahierte Heu, zeigte dieses Heu auch die Erscheinungen der Selbsterhitzung, und hätte nachher diese Zusammensetzung, umgerechnet auf Trockensubstanz:

Asche	3,2 Proz.
Pentosane	10,2 "
Eiweiß	6,5 "
Rohfaser	72,4 "
Rohfett	4,0 "
N-freie Extraktstoffe	3,7 "

Aus beiden Analysen sieht man die typischen Erscheinungen der Selbsterhitzung: Abnahme der Pentosane und N-freien Extraktstoffe und dagegen Vermehrung der Rohfaser. Das Agens der Erscheinungen der Selbsterhitzung ist also ebensowenig löslich in 2 Proz. HCl, welche während 3 Stunden bei Kochhitze einwirkte, als im Wasser.

Jetzt wurde derselbe Versuch mit Natronlauge wiederholt. Das Heu wurde erstens mit Wasser ausgekocht, so lange, bis keine Reduktion durch Fehlingsche Lösung mehr auftrat, und sodann während 3 Stunden mit einer 2-proz. Natronlauge behandelt. Die Lauge wurde abgossen und das Residuum wiederholt mit Wasser bis zu neutraler Reaktion ausgewaschen. Dieses Präparat diente nach vorheriger Trocknung zur Auffüllung einer Rotationsbüchse. Die Analyse zeigte in der Trockensubstanz:

Asche	3,0	Proz.
Eiweiß	0,5	"
Rohfaser	68,0	"
Rohfett	2,0	"
Pentosane	28,0	"

Dies macht zusammen zwar 101,5 Proz., aber die ungenauen Bestimmungsmethoden der Rohfaser und Pentosane geben hierzu eine ausreichende Erklärung. Nachdem dieses Präparat 3 Wochen in der Rotationsbüchse behandelt worden war, fehlte fast jede Erscheinung der Selbsterhitzung; nur der Geruch erinnerte einigermaßen daran. Die Analyse gab in der Trockensubstanz 26,5 Proz. Pentosane; also betrug die Abnahme  $28 - 26,5 = 1,5$  Proz. Bei weiteren Versuchen, welche in ganz gleicher Weise genommen wurden, zeigte sich aber, daß das Auskochen mit 2-proz. Lauge nicht immer dieselbe Erscheinung gibt. So enthielt z. B. in einem Falle die Masse vor der Behandlung in der Trockensubstanz 26,4 Proz. Pentosane und nach einer Behandlung während 3 Wochen in der Rotationsbüchse bloß 16,6 Proz., folglich waren hier 9,8 Proz. verloren; ein anderes Mal enthielt das Präparat vor der Behandlung 21,8 Proz. und nachher 16 Proz. Pentosane, folglich verschwunden 5,8 Proz. Bei dem letzten Versuche war das Heu sogar 2mal hintereinander mit Lauge ausgekocht. Im allgemeinen kann man also sagen, daß das Agens der Erscheinungen der Selbsterhitzung auch nicht löslich ist in einer 2-proz. Natronlauge.

### Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

*Nachdruck verboten.*

Landwirtschaftliches Laboratorien und Versuchswirtschaft der k. k.  
Hochschule f. Bodenkultur in Wien.

### Ueber die Oxydation des Wasserstoffes und des Methans durch Mikroorganismen.

Von Dr. Kaserer Hermann.

Vorliegendes Autoreferat der angeführten vorläufigen Mitteilung<sup>1)</sup>, das ich teilweise ergänzt habe, beschreibt Versuche, die über das Schicksal der bei zahlreichen Prozessen in der Natur freiwerdenden Gase: Wasserstoff und Methan Aufschluß geben, und die daher auch für die allgemeine Biologie insofern Bedeutung besitzen, als durch das Ergebnis derselben der bisher beim Endprodukte Methan offene Kohlenstoffkreislauf geschlossen und für den Wasserstoff ein vollständiger Kreislauf aufgedeckt wurde:

I. Kohlensäure + Wasser = Kohlenhydrat + Sauerstoff (Assimilation der grünen Pflanzen).

II. Kohlenhydrat = Fettsäuren + Kohlensäure + Wasserstoff (Wasserstoffgärung der Cellulose).

1) Zeitschr. f. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. VIII. 1905. p. 789.

## III. Wasserstoff + Sauerstoff = Wasser (neugefundener Prozeß).

Nach Abschluß der bakteriologischen Untersuchungen werde ich Einzelheiten nachtragen; infolge der speziellen methodischen Arbeitsschwierigkeiten mußte ich mich vorläufig darauf beschränken, die Haupttatsachen festzulegen.

1) Die Oxydation des Wasserstoffes in Rohkulturen kann man in gewöhnlichen Gärkölbchen (nach Einhorn) sichtbar machen, indem man dieselben umgekehrt verwendet, d. h. den geschlossenen Schenkel nicht zum Auffangen des Gärproduktes, sondern zur Aufbewahrung des gasförmigen Nährstoffes (Wasserstoff) benützt. Man verwendet die bekannte, auch zur Züchtung der Nitritbildner benützte mineralische Nährlösung (Wasser 100, Dikaliumphosphat 0,05, Ammonchlorid 0,10, Magnesiumsulfat 0,02, Eisenchlorid Spur, Natriumbikarbonat 0,10). Man sterilisiert das gefüllte Gärkölbchen, beimpft mit einer geringen Menge (0,1 g) Erde und leitet mittels einer Kapillare, die an der Verengung einen gehörig dichten Asbestpfropf hat und vor jedesmaliger Verwendung in der Flamme sterilisiert wird, einige Blasen Kohlensäure und hierauf Wasserstoff bis zur Füllung des geschlossenen Schenkels mit Gas ein.

Der im Kippschen Apparate aus reinen Reagentien bereitete Wasserstoff wird durch Waschen mit Kupfersulfatlösung, saurer und alkalischer Kaliumpermanganatlösung und konzentrierter Schwefelsäure auf das sorgfältigste gereinigt.

Nachdem man ein Kontrollkölbchen (steril, ohne Erde) vorbereitet hat, notiert man den Stand des Gases in beiden Kölbchen und bringt sie in den auf 28—30° erwärmten Brutschrank.

Anfänglich nimmt durch Diffusion das Gasvolumen in beiden Kölbchen wenig und gleich stark ab, aber schon nach wenigen Tagen weist das sterile Kölbchen konstanten Stand auf, während aus dem beimpften der Wasserstoff verschwindet. Durch Ueberimpfen einer Platinöse Flüssigkeit kann die Erscheinung übertragen werden, und zwar bei beliebig oftmaliger Wiederholung des Versuches mit steigender Intensität. Da mit sterilisierter Erde, oder wenn nach dem Ueberimpfen sterilisiert wurde, die Erscheinung ausblieb, konnte angenommen werden, daß es sich um einen biologischen Prozeß, nicht um eine katalytische Wirkung irgend eines Bodenbestandteiles handle. Diese Annahme wurde zur Gewißheit, als es gelang, von den in den Ueberimpfungen zahlreich vorhandenen Bakterien auf Kieselsäuregallerte in Luft-, Wasserstoff-, Kohlensäureatmosphäre Strichkulturen anzulegen, deren schwaches Wachstum die Herstellung von Reinkulturen außerordentlich erschwerte, die aber doch befähigt waren, bei Abimpfung in Gärkölbchen den Prozeß einzuleiten. Da es außerdem durch einige Kunstgriffe (vorsichtiges Entfernen des Gases aus dem Kölbchen nach 8—10 Tagen und Einleiten frischen Wasserstoffes) gelingt, eine dichte Bakterienhaut auf der inneren Wasseroberfläche des Kölbchens heranzuzüchten, die dann befähigt ist, selbst mehrere Kubikcentimeter Wasserstoffgas in einem Tage zu verbrennen, so ist die Existenz wasserstoffoxydierender Bakterien völlig erwiesen. Mittels eines Stückchens Palladiumdraht kann man sich davon überzeugen, daß der nach einiger Zeit (10—12 Tagen) im beimpften Kölbchen sich findende Gasrest nicht Wasserstoff ist, daher auch eine weitere Volumenabnahme nicht mehr stattfinden kann, wogegen sich im Kontrollkölbchen noch Wasserstoff findet.

Was aus dem Wasserstoff entsteht, konnte bisher mit Sicherheit nicht festgestellt werden; da jedoch Sauerstoff (Luft) zu den Kulturen Zutritt haben muß und irgendwelche Reaktionsprodukte sich nicht finden, so nehme ich an, daß Wasser gebildet wird. Dafür spricht auch der Umstand, daß bei Oxydation von Wasserstoff zu Wasser das Maximum an Wärmeentwicklung statt hat.

Außer Wasserstoff und Sauerstoff sind auch geringe Mengen von Kohlensäure unbedingt nötig; versäumt man es, davon hinzuzugeben, verzögert sich der Prozeß bedeutend, bei völliger Abhaltung derselben bleibt er aus. Da die in Rede stehenden Bakterien die Empfindlichkeit gegen organische Substanzen mit Nitrit- und Nitratbildner teilen, haben sie offenbar wie diese eine autotrophe Lebensweise und verwenden die bedeutende, bei der Oxydation der Wasserstoffes freiwerdende Energie zur Assimilation von Kohlensäure.

Die Bedeutung des gefundenen Prozesses für die Bakteriologie der Ackererde ist offenkundig. Denn er verhindert (wenn auch vielleicht nur teilweise) das Entweichen des durch viele anaerobe Bakterienarten gebildeten Wasserstoffes in den Luftraum und damit den Verlust einer bedeutenden Energiemenge, er hindert ferner die vollständige Mineralisierung der organischen Substanz, indem die Stoffwechselprodukte der anderen Organismen, Wasserstoff und Kohlensäure, mit Hilfe des Luftsaauerstoffes wieder zu organischer Substanz zusammengeschweißt werden, und er macht ferner vielleicht einen Teil der organischen Substanz des Untergrundes durch deren Zersetzungsprodukte wieder für den Ackerbau nutzbar. Ob nicht auch für die Geologie der Prozeß Bedeutung besitzt, besonders da ja in früheren Erdperioden die Erdatmosphäre eine andere Zusammensetzung hatte, entzieht sich vorläufig meiner Beurteilung. Doch ist es klar, daß ein Organismus, der von drei Gasen: Wasserstoff, Sauerstoff, Kohlensäure lebt, ebenso wie die anderen bisher gefundenen autotrophen Organismen entwicklungsgeschichtlich dem einfachsten, durch Urzeugung entstandenen Protoplasma viel näher steht als die anderen Bakterien u. s. w.

2) Bakterien, die Methan als Kohlenstoffquelle benutzen können, kann man unter Verwendung der oben beschriebenen Methode ( $\text{NaHCO}_3$  ist wegzulassen) leicht in Rohkulturen anhäufen, wenn man das aus Natriumacetat gewonnene unreine Methan durch Durchleiten durch Bromwasser und Natronlauge reinigt.

Für die bakteriologischen Verhältnisse der Ackererde hat dieser Prozeß, über den ich in kurzer Zeit ausführlich berichten werde, ähnliche Bedeutung wie der vorhin erwähnte; er erklärt aber auch, warum in der Atmosphäre, in die doch stets bedeutende Mengen Methan aus den Darmgasen der Tiere strömen, sich erhebliche Mengen davon nicht vorfinden.

3) Der Einfluß von Methan und Wasserstoff auf die Nitrifikation zeigt sich darin, daß in den Rohkulturen, solange Wasserstoff oder Methan gegenwärtig waren, Bildung von Nitrit (aus dem Ammon der Nährlösung) fast niemals eintrat. Aus einigen weiteren Versuchen ergab sich, daß Oxydation von Wasserstoff und Ammon bei genügender Luftzufuhr nebeneinander möglich sind, daß bei geringer Luftzufuhr jedoch die Nitrifikation erst dann einsetzt, wenn die oxydablen Gase verschwunden sind. Diese Beobachtung deckt sich mit der Be-

obachtung van Itersons<sup>1)</sup>, daß Nitrifikation bei genügender Lüftung auch bei Gegenwart kleiner Mengen von Cellulose möglich ist.

Die im Boden wachsenden Pflanzen scheinen auf die Zahl der im Boden sich findenden wasserstoffoxydierenden Keime einen bestimmten Einfluß auszuüben (Hiltners Rhizosphäre), wenn man nämlich aus der Geschwindigkeit des Prozesses auf die Anzahl der denselben bewirkenden Keime schließen darf, was in gewissen Fällen wohl zulässig erscheint.

Im Bracheboden scheinen besonders viel Keime vorzukommen; damit deckt sich die wiederholt gemachte Beobachtung, daß, besonders im Anfange der Brachzeit, die Menge an Salpeterstickstoff klein ist. Die naheliegende Frage, warum die Entwicklung von Wasserstoff (denn dieser ist doch offenbar die Ursache der ihn oxydierenden Organismen) durch die Brache gefördert wird, bleibt allerdings offen.

4) Resultate. a) Es gibt in der Ackererde Organismen (Bakterien), die befähigt sind, unter Assimilation von Kohlensäure im Dunkeln bei Gegenwart von Sauerstoff Wasserstoff zu oxydieren.

b) Es gibt Bakterien, welche Methan als Kohlenstoffquelle verwenden können.

c) Gegenwart von Wasserstoff und Methan stören in Rohkulturen die Nitrifikation. Autoreferat.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XI. 1904. p. 692.

## Inhalt.

**Boekhout, F. W. J. und Ott de Vries, J. J.**, Ueber die Selbsterhitzung des Heues, p. 568.

**Fuhrmann, Franz**, Ueber die Erreger des Fadenziehens beim Brote. (Schluß), p. 538.

**Harrison, F. C. and Barlow, B.**, A new chromogenic slime-producing organism, p. 517.

**Mencl, Emanuel**, Cytologisches über die Bakterien der Prager Wasserleitung, p. 544.

**Schorler, B.**, Die Rostbildung in den Wasserleitungsröhren, p. 564.

**Söhngen, W. L.**, Ueber Bakterien, welche Methan als Kohlenstoffnahrung und Energiequelle gebrauchen, p. 513.

**Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.**

**Kaserer, Hermann**, Ueber die Oxydation des Wasserstoffes und des Methans durch Mikroorganismen, p. 573.

*Nachdruck verboten.*

**Bakteriologische Untersuchungen über das  
armenische Mazun.**

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidgen. Polytechnikums in Zürich (Vorstand: Prof. Dr. R. Burri).]

Von Dr. **Max Düggell**, Assistenten.

Unter Mazun versteht der Armenier saure, geronnene Milch, die sich von unserer sauren Milch durch den Gehalt an aromatischen Geschmack- und Geruchstoffen, sowie durch festere Konsistenz auszeichnet. Das Mazun zeigt alle Merkmale einer durch Mikroorganismen bedingten Gärung. Diese ist bis jetzt noch kaum zum Gegenstand eingehender Untersuchungen gemacht worden. Zwar hat vor einigen Jahren O. Emmerling<sup>1)</sup> Mitteilungen über die Bakterienflora des Mazun veröffentlicht. Indessen stand dem genannten Autor zu seinen Untersuchungen nicht die dicke Milch selbst, sondern nur die gärungserregende Masse, eine käseartige, fettige Substanz zur Verfügung. Durch die Freundlichkeit von Herrn K. Diradourian, dipl. agr. in Zürich, dem wir auch an dieser Stelle hierfür bestens danken, standen uns zu vorliegenden Studien mehrere Mazunproben zur Disposition, und ihre eingehende bakteriologische Prüfung ergab wesentlich andere Resultate, als die durch O. Emmerling publizierten. Wir fanden es deshalb angezeigt, im Vorliegenden die Ergebnisse unserer eigenen Untersuchungen, soweit sie die Bakterien des Mazun betreffen, zur Kenntnis zu bringen. Auf ein näheres Studium der Mazunhefen konnten wir vorläufig um so eher verzichten, als dieselben in P. Lindner<sup>2)</sup> und A. Kalanthar<sup>3)</sup> schon Bearbeiter gefunden haben.

Vorerst einiges über Herstellung, Aussehen, Eigenschaften und Verwendung des Mazun, wie es uns durch die mündlichen Mitteilungen von Herrn Diradourian, durch Literaturstudium<sup>4)</sup> und eigene Beobachtungen bekannt wurde.

Das beste Mazun wird aus Büffel-, Schaf- und Ziegenmilch gewonnen, doch wird in neuerer Zeit, besonders auch in den Städten, Kuhmilch verwendet, die aber nicht eine so fest geronnene Masse liefert. Aus Büffelmilch bereitet, gerinnt die Flüssigkeit so fest, daß sie mit dem Messer in Stücke geschnitten werden kann. Weniger steif ist das Mazun aus Schaf- und Ziegenmilch, noch weniger dick bei der Herstellung aus Kuhmilch, aber doch noch bedeutend konsistenter als unsere gewöhnliche saure Milch. Sehr häufig konnten wir den in Bechergläsern von 8 cm Durchmesser und 12 cm Höhe aus Kuhmilch gewonnenen

1) Emmerling, O., Ueber armenisches Mazun. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 418—420.)

2) Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 3. Aufl. Berlin 1901.

3) Kalanthar, A., Ueber die Spaltung von Polysacchariden durch verschiedene Hefeenzyme. (Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. XXVI. 1898/1899.)

4) Emmerling, O. (l. c.), Kalanthar, A. (l. c.) und Martiny, B., Mazun. (Milchzeitung. Jahrg. XXVII. 1898.)

Mazuncylinder in horizontale Lage bringen, ohne befürchten zu müssen, daß die Masse ausfließe.

Die Herstellung des Mazun in Armenien geschieht so, daß zu aufgekochter und auf Bluttemperatur abgekühlter Milch ein Rest alten Mazun zugesetzt wird. Zu dem Zweck verrührt man so viel warme Milch oder kaltes Wasser mit dem Mazunrest, bis derselbe dünnflüssig ist, gibt ihn nun zu der übrigen Milch in einen flachen Topf, rührt tüchtig um und bedeckt mit einem dicken Tuch oder in vereinzelter Fäßen mit einer passenden Platte. Wir sind im Gegensatz zu B. Martiny (l. c.) nicht der Ansicht, daß durch dieses Bedecken mit einem Tuch oder mit einer Platte die Luftinfektion in erster Linie fern gehalten werden soll. Vielmehr dürfte durch diese Maßnahme einerseits die Verunreinigung durch makroskopische Gegenstände, andererseits aber besonders das längere Warmbleiben der in Gärung zu versetzenden Masse angestrebt werden. Wie wir uns durch mehrere Beobachtungen überzeugten, kann die Luftinfektion bei der Zubereitung dieser sauren Milch kaum eine Rolle spielen, da die zugesetzten Gärungserreger unter den gebotenen optimalen Bedingungen so energisch arbeiten, daß von außen hereingefallene Mikroben sich entweder gar nicht oder nur spärlich entwickeln.

Das beschickte Gefäß wird im Winter nahe dem Kochherd, im Sommer an einem beliebigen geschützten Ort 1—2 Tage aufgestellt. Je nach den äußeren Verhältnissen und der zugesetzten Impfmenge gerinnt die Masse schon nach 12—18 Stunden, eventuell auch früher und ist entweder sofort oder nach weiterem 12—36-stündigen Stehen zum Gebrauche bereit.

Gutes Mazun zeigt gar keine Serumausscheidung und zeichnet sich schon dadurch von der gewöhnlichen sauren Milch in vielen Fällen vorteilhaft aus. Wird die Masse aber erschüttert, so zieht sich der Käsestoff unter Austritt klarer Molken zusammen und büßt viel von ihrem appetitlichen Aussehen ein. Um zum Genuß steiferes Mazun zu erhalten, wird dasselbe zweckmäßigerweise vorher einige Zeit an einen kühlen Ort gestellt. Mehr als 2—3 Tage darf das Mazun nicht stehen bleiben, da sonst die sich bildende Milchsäure in unangenehmer Weise überhandnimmt und gleichzeitig der angenehme Geschmack und Geruch zurückgeht. Diese dicke Milch ist zwar zufolge ihres hohen Säuregehaltes erstaunlich lange haltbar, bedeckt sich aber doch nach 1—3 Wochen mit einer Schimmeldecke und später vollziehen sich in der Tiefe Zersetzungs Vorgänge, die vom Auftreten übelriechender Stoffe begleitet sind. Wir konnten auch die Beobachtung machen, daß Mazunproben, die zum Zwecke längerer Haltbarkeit bei nicht zu hohem Säuregehalt in den Eisschrank oder in den Thermostaten bei 20° gestellt worden waren, nach einigen Tagen in den untern Partien erst schwach und später stärker fadenziehend wurden.

Im richtigen Stadium, d. h. bei nicht zu hohem Säuregehalt genossen, ist das Mazun auch für unseren Gaumen besonders in der heißen Jahreszeit eine vorzügliche Speise. Wir machten mit dem wiederholten Genuß der erfrischenden, anregenden, leichtverdaulichen und appetitlichen Masse die angenehmsten Erfahrungen. Mit dem sehr angenehmen Geruch nach Fettsäureestern ist ein pikanter Geschmack nach Säure, Aromastoffen und etwas Alkohol verbunden. In Armenien wird das Mazun entweder direkt genossen oder besonders im Sommer mit Wasser vermischt bei der Feldarbeit als Getränk konsumiert. Für jene Gegenden



ist dieses Milchprodukt von unschätzbarem Werte, da zufolge des miasmatischen und Fieber verursachenden Klimas Wassergenuß oft schädlich ist und alkoholische Getränke infolge der großen Hitze leicht nachteilig wirken können. Auch Milchspeisen verschiedener Art verstehen die Armenier aus dem Mazun herzustellen. Seine Hauptbedeutung liegt aber in der Verwertung zur Butterbereitung. Der größte Teil der verwendeten und exportierten armenischen Butter ist aus Mazun gewonnen. Diese Butter wird zufolge ihres angenehmen Geschmacks und Geruches der Süßrahmbutter weit vorgezogen. Die bei der Butterbereitung übrig bleibende saure Buttermilch findet Verwendung als kühlendes Getränk, in der Küche zur Zubereitung von Speisen oder sie wird zu Käse verarbeitet. Zu diesem Zwecke läßt man die Buttermilch stehen, bis die klare Molke ausgetreten ist, was nach 1—4 Tagen stattfindet. Alsdann wird die Flüssigkeit weggegossen und die Quarkmasse, jetzt Than genannt, in einem Sack ausgepreßt und entweder sofort konsumiert oder im Sommer zu Handteller-großen, flachen Käschen geformt und an der freien Luft und, wenn möglich, an der Sonne rasch knochenhart getrocknet. Oft wird der Than auch mit Mehl versetzt, in Stückchen geschnitten und an der Sonne getrocknet. Die getrocknete Quarkmasse Tschorathan, d. h. getrockneter Than genannt, ist in Armenien von großer wirtschaftlicher Bedeutung, indem dieser Dauerkäse im Winter in Wasser aufgeweicht und dann entweder direkt genossen, oder zur Zubereitung verschiedener Speisen verwendet wird. Ist in einer Haushaltung das Mazun ausgegangen, so wird Than als gärungserregendes Agens zur aufgekochten und auf Bluttemperatur abgekühlten Milch zugesetzt. Fehlt auch der Than, so kann als Notbehelf etwas von der Brotbereitung zurückbehaltener Sauerteig verwendet werden.

Ein Stück solchen getrockneten Quarkes hat offenbar O. Emmerling (l. c.) bei seinen bakteriologischen Untersuchungen über das armenische Mazun zur Verfügung gestanden. In sterilisierte Milch gebracht, erzeugte jener Than alkoholische Gärung, wobei das Kasein gerann, Säure produziert und angenehme, an Fettsäureester erinnernde Geruchsstoffe gebildet wurden. Mit Hilfe von mit Chloroform entfetteten Ausstrichpräparaten konstatierte oben zitierter Autor im Than Hefezellen, Mikrokokken und Bacillen. Wie zu erwarten, ergab die Verarbeitung jenes Than auf Traubenzuckergelatineplatten ein buntes Gemisch von Mikroorganismen, denn nicht nur zufolge Luftinfektion, sondern auch durch die Verunreinigung infolge Berührung mit Gegenständen der Außenwelt mußte der anfänglich noch klebrige Quark Mikroben beherbergen, die zur Mazungärung in keiner Beziehung stehen. O. Emmerling konstatierte denn auch auf den Platten neben zahlreichen Hefekolonien, worunter sich auch eine Anzahl gefärbter Arten befanden: *Oidium lactis*, einige Schimmelpilze, eine gelbe *Sarcina*, den *Heubacillus*, seltener Kokken (A) und einen kleinen, an den Enden zugespitzten unbeweglichen *Bacillus* (B). Daß trotzdem aus dem Than Mazun zubereitet werden kann, ist durch die energische Tätigkeit der zur Mazungärung notwendigen Bakterien- und Hefearten zu erklären, die zufällige Verunreinigungen einfach überwuchern.

Gleichzeitig bemerkt der genannte Forscher: „Ein im ursprünglichen Präparat (Than) beobachteter dünner, langer *Bacillus* konnte leider auf Platten bislang nie wiedergefunden werden, so oft und so viel auch die Bedingungen abgeändert wurden. Vielleicht war der *Bacillus* bereits tot, oder aber er kann auf den üblichen Nährböden nicht wachsen, da

er auch in der gegorenen Milch nicht wiedergefunden wurde, so halte ich ihn für die Erzeugung des Mazuns für unwesentlich.“ Hier stimmen unsere Befunde mit denjenigen Emmerlings gar nicht überein. Den in Frage stehenden schlanken Bacillus beobachteten wir in jeder Mazunprobe, gleichgültig ob dieselbe aus der Praxis uns zugestellt worden war, oder ob wir selbst zubereitetes Mazun untersuchten. Wie wir später auch experimentell zeigen werden, ist dieses Langstäbchen ein Hauptbestandteil des die Gärung hervorrufenden Gemisches von Mikroorganismen.

Emmerling beschreibt in der zitierten Publikation einen ausgesprochen aeroben Micrococcus (A) und gibt von einem gefundenen Bacillus (B) an: „Es unterliegt keinem Zweifel, daß der Bacillus identisch ist mit dem Bacillus acidilactici von Hueppe, welchen Günther und Tierfelder genauer untersucht haben.“ Und als Fazit aus den gemachten Untersuchungen: „Oidium lactis, der Heubacillus, die Sarcine und die Schimmelpilze dürften für das Zustandekommen der Gärung im Mazun kaum eine Bedeutung besitzen. Dem Coccus dagegen und dem Bacillus acidilactici kommt im vorliegenden Falle die Rolle zu, den Milchzucker in Milchsäure zu verwandeln und teilweise auch zu hydrolysieren und dadurch angriffsfähig für die Hefen zu machen, welche ja nach allen vorliegenden Erfahrungen Milchzucker nicht direkt vergären können. Wie beim Kefir, so liegt also auch im armenischen Mazun wieder ein ausgesprochenes Beispiel der Symbiose von Hefen und Bakterien vor.“

Mit diesen Schlußsätzen decken sich nun unsere Beobachtungen und Untersuchungen nur zum kleinsten Teil. Damit sind wir einverstanden, daß Oidium lactis, der Heubacillus, die Sarcina und die Schimmelpilze für die Zubereitung eines guten Mazun bedeutungslos sind; das Gleiche aber gilt nach unserer Ansicht auch für den Micrococcus A, den wir ebenfalls für eine zufällige Verunreinigung des Than halten, da wir denselben nie im Mazun beobachten konnten und er auch zu dessen Herstellung vollständig entbehrlich ist. Welchen Mikroorganismus Emmerling unter der Bezeichnung Bacillus B versteht, blieb uns leider unklar. Genannter Autor bezeichnet den in Frage stehenden Bacillus B an einer Stelle als „kleinen, an den Enden zugespitzten unbeweglichen Bacillus“, wobei wir sofort an das durch Günther und Tierfelder genau studierte Bacterium lactis acidilactici, das wir heute als Bacterium (Streptococcus) Güntheri L. et N. zu bezeichnen pflegen, erinnert wurden. An einer anderen Stelle aber erklärt Emmerling den gleichen Bacillus B als unzweifelhaft identisch „mit dem Bacillus acidilactici von Hueppe, welchen Günther und Tierfelder genauer untersucht haben“. Offenbar liegt der letzten Bemerkung die irrtümliche Auffassung zu Grunde, daß Hueppe einerseits, Günther und Tierfelder andererseits bei ihren Studien über die spontane Milchgerinnung ein und denselben Gärungserreger in Händen gehabt haben, eine Auffassung, welcher man in der Literatur noch mitunter begegnet und die namentlich durch Leichmanns gründliche Arbeiten in das richtige Licht gerückt erscheint.

Auch wir isolierten aus dem Mazun einen Bacterium Güntheri ähnlichen Organismus, der für die Herstellung dieses Produktes von Bedeutung ist, dessen kulturelles Verhalten uns aber im unklaren darüber läßt, ob wir den Organismus zu den Streptokokken zählen sollen, oder

ob eine spezifisch angepaßte Varietät des *Bacterium Güntheri* L. et N. vorliegt.

Der Behauptung, daß die im Mazun vorhandenen Bakterien den Milchzucker teilweise hydrolysieren, um ihn für die Hefen angriffsfähig zu machen, welche Milchzucker nicht direkt zu vergären vermöchten, müssen wir auf Grund unserer Erfahrungen widersprechen, da eine von uns aus dem Mazun zu wiederholten Malen isolierte Hefespecies in Reinkultur Milchzucker unter heftiger Gasbildung zersetzt.

Endlich können wir im armenischen Mazun nicht ein ausgesprochenes Beispiel einer Symbiose zwischen Hefen und Bakterien erblicken, denn jeder der drei, für die Bereitung eines guten Mazun notwendigen Mikroorganismen arbeitet für sich in Reinkultur in spezifischer Weise und die Kombination, d. h. die Vergesellschaftung der drei Mikroben ruft durch ihre Tätigkeit in der dargebotenen aufgekochten Milch jene Summe von Veränderungen hervor, welche für das Mazun charakteristisch sind.

Die im folgenden zusammengestellten Angaben über die Ergebnisse unserer eigenen Untersuchungen beziehen sich auf das gegorene Produkt, das Mazun selbst und nicht auf die gärungserregende Masse, den Than, da wir zufolge der zahlreichen Verunreinigungsquellen bei der Herstellung des Than nicht zum voraus entscheiden können, welche Mikroorganismen die eigentlichen Erreger der Mazungärung sind und welche nur als zufällige Verunreinigungen in Betracht kommen. Wird aber das frisch hergestellte Mazun selbst zur Untersuchung verwendet, so werden in demselben wenigstens die Mikroben weit vorherrschen, welche in der Milch die entscheidenden Veränderungen hervorrufen. Es wurden uns im ganzen durch Herrn Diradourian vier Mazunproben zu Untersuchungszwecken zur Verfügung gestellt. Drei von diesen Proben stammten von einer in Zürich lebenden armenischen Familie, die hier das ihr heimische Milchprodukt schon jahrelang aus Kuhmilch zu Genußzwecken herstellt, während die vierte Probe direkt von Konstantinopel importiert wurde. Wir gedenken das bei der Untersuchung der einzelnen Proben Beobachtete hier in Kürze anzuführen.

### Mazunprobe I.

Die Herstellung dieses Mazun aus Zürich ist eine recht einfache. Zu 5—6 Litern aufgekochter und auf Bluttemperatur abgekühlter Kuhmilch wird ein Eßlöffel voll gebrauchsfertiges Mazun, das zuvor in warmer Milch fein verteilt wurde, zugesetzt und das Ganze an einen warmen Ort gestellt. Die vorliegende Probe ist eine dickflüssige weiße Masse ohne Serumausscheidung, aber mit bröckelig geronnenem Kasein. Ein sehr angenehmer, an Fettsäureester erinnernder Geruch steigt auf, während der Geschmack scharf sauer ist und nicht mehr zum Genusse einlädt. Im Präparat im hängenden Töpfchen sind neben vorherrschenden 3—10  $\mu$  langen und 1  $\mu$  breiten, vollständig unbeweglichen, an den Enden abgerundeten Stäbchen mit körnigem Inhalte, in lebhafter Sprossung befindliche Hefezellen zu sehen.

Nach sechstägigem Aufenthalte bei Zimmertemperatur veränderte sich die Probe nicht wesentlich und zeigte immer noch den angenehmen Geruch nach Fettsäureestern. 20 ccm dieses Mazun brauchten zur Neutralisation 20 ccm einer  $\frac{1}{10}$  Normal-Natronlauge.

Sofort nach dem Eintreffen der Mazunprobe wurden mit den nötigen Verdünnungen Molkengelatineplatten und Milchzuckeragar hohe Schicht-

kulturen angelegt. Nach 6 Tagen bei 20° waren auf den Platten, denen intensiver, aber angenehmer Fettsäureestergeruch entströmte, reichlich Hefekolonieen gewachsen, die alle der gleichen Art anzugehören schienen, insofern aus dem morphologischen Bilde allein ein solcher Schluß zulässig ist. Einige Kolonien auf Molkengelatinestich gebracht, bildeten da neben den angenehmen Geruchsstoffen auch reichlich Gas. In der hohen Schichtkultur von Milchzuckeragar vermochten sich die Hefen nur im obersten halben Centimeter zu makroskopisch sichtbaren Kolonien zu entwickeln, während in den tieferen Partien die Hefekolonieen nur aus ganz kleinen Sproßverbänden bestanden. Die in der Tiefe sichtbaren größeren Kolonien gehörten nach ihrem mikroskopischen Bilde und dem Verhalten in sterilisierter Milch zum Typus des Bacterium (Streptococcus) Güntheri L. et N. Die im Ausgangsmaterial zu konstatierenden Langstäbchen waren also auf den beiden festen Nährböden (Molkengelatine und Milchzuckeragar) nicht gewachsen.

Gleichzeitig mit den Platten und der hohen Schichtkultur wurden auch Gläschen mit 20 ccm sterilisierter Milch mittelst kleiner Oese Mazun geimpft und je eines zu 20, 30 und 37° gestellt. Nach 12 Stunden zeigten die geimpften Milchgläschen folgendes Bild:

Bei 20°. Die Milch ist noch flüssig, makroskopisch unverändert, zeigt aber schwachen Obstgeruch. Zur Neutralisation sind 2,8 ccm  $\frac{1}{10}$  Normal-Natronlauge (NaOH) nötig<sup>1)</sup>.

Bei 30°. Milch fest gallertig geronnen, nicht mehr fließend. Angenehmer, aber schwacher Tafelobstgeruch. Zur Neutralisation werden 7,5 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH gebraucht.

Bei 37°. Milch ebenfalls fest gallertig geronnen, aber unter der Rahmdecke befindet sich eine ca. 1 mm breite Serumzone. Intensiver Geruch nach Tafelobst. Zur Neutralisation benötigte Menge  $\frac{n}{10}$  NaOH 21,5 ccm.

Mit steigender Temperatur ist also auch eine Zunahme der in der gleichen Zeit gebildeten Menge Säure zu konstatieren.

Eine zweite Serie von Gläschen mit sterilisierter Milch zu 20, 30 und 37°, sowie aufgekochte Konsummilch zu 20° gestellt, nachdem mit je einer kleinen Oese Mazun geimpft worden war, ergab nach 3 Tagen folgendes Resultat:

Sterilisierte Milch bei 20°. Noch flüssig, unter der Rahmdecke einige Gasblasen, intensiver Geruch nach Fettsäureestern. Zur Neutralisation der 20 ccm Milch sind 10,2 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH notwendig.

Sterilisierte Milch bei 30°. Gallertig geronnen, nicht mehr fließend, Kaseinmasse von Gasblasen durchsetzt, die sich teilweise unter der Rahmdecke ansammeln. Schwache Serumzone unter dem Rahm, angenehmer Obstgeruch. Zur Neutralisation werden 51,3 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH benötigt.

Sterilisierte Milch bei 37°. Kasein gallertig geronnen, von einigen Gasblasen durchsetzt. Unter dem Rahm ca. 2 mm breite Serum-

1) Die angegebene Zahl Kubikcentimeter  $\frac{1}{10}$  Normal-Natronlauge soll die Menge der zur Neutralisation (Indikator: Phenolphthalein) der in 20 ccm sterilisierter Milch gebildeten Säure nötigen  $\frac{1}{10}$  Normal-Natronlauge angeben, wobei also die zur Neutralisation einer gleichzeitig eingestellten, ungeimpften Probe von 20 ccm sterilisierter Milch nötige Menge  $\frac{n}{11}$  NaOH jeweils schon abgezogen ist. Die Milch wurde nicht direkt titriert, sondern zur quantitativen Ueberführung in ein für die Ausführung der Titrierung geeignetes Gefäß mit dem vierfachen Volumen destillierten Wassers verdünnt.

zone bei intensivem Geruch nach Tafelobst. Zur Neutralisation sind 51,9 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH nötig.

Gekochte Milch bei 20°. Milch flüssig, unter der Rahmdecke haben sich ca. 1,5 ccm Gas angesammelt. Intensiver, aber sehr angenehmer Obstgeruch und erfrischender Geschmack nach Obstpreßsaft. Zur Neutralisation von 20 ccm solcher Milch sind 11,9 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH notwendig. Der bei der Untersuchung übrigbleibende Rest dieser Milch gerann nach weiteren 24 Stunden und zeigte im Präparat im hängenden Tröpfchen die gleichen Organismen (Langstäbchen und Hefen) wie die untersuchte Mazunprobe.

Eine dritte Serie von Milchproben, die mit einer kleinen Oese Ausgangskultur geimpft wurden, bestand in aufgekochter Milch in Bechergläsern mit darüber gestülpter Glasdose bei 20, 30 und 37°. Nach 20 Stunden war folgendes Bild zu konstatieren:

Bei 20°. Milch ist vollständig unverändert, Säureproduktion ist noch keine eingetreten. Im Präparat im hängenden Tröpfchen bewegen sich einige Stäbchen vom Typus des *Bacillus Megatherium* De Bary. Nach 6 Tagen ist die Milch gallertig geronnen mit starker Serumausscheidung. Im mikroskopischen Bilde finden sich vorwiegend unbewegliche Kurzstäbchen und in den Hintergrund gedrängt die eigentlichen Gärungserreger des Mazun (Langstäbchen und Hefen). Nur ein schwacher angenehmer Obstgeruch ist wahrnehmbar.

Bei 30°. Das Kasein ist gallertig geronnen. Unter dem Rahm schwache Serumzone mit einigen großen Gasblasen, welche die Rahmdecke emporwölben. Angenehmer Obstgeruch, Geschmack angenehm aromatisch, aber schon zu stark sauer. Unter dem Mikroskop sind vorherrschend 3—7  $\mu$  lange und 1  $\mu$  breite unbewegliche Stäbchen zu sehen, dazwischen ziemlich viele in Sprossung begriffene Hefezellen. Zur Neutralisation von 20 ccm Mazun sind 25,8 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH notwendig.

Bei 37°. Das Kasein ist ebenfalls gallertig geronnen. Unter der durch Gasblasen etwas emporgewölbten Rahmdecke findet sich eine ca. 1 cm hohe Schicht getrübten Serums. Der angenehm nach Tafelobst duftende Geruch ist begleitet von einem angenehmen, aber schon zu stark sauren Geschmack. Das mikroskopische Bild zeigt weit vorherrschend 3—7  $\mu$  lange und 1—1,2  $\mu$  breite, unbewegliche Stäbchen, Hefen sind nur wenige zu konstatieren. Zur Neutralisation von 20 ccm Mazun sind 35,7 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH nötig.

Aus diesen Versuchen geht deutlich hervor, daß die optimale Temperatur für die Zubereitung von Mazun in der Nähe von 30° liegt, denn bei 37° war die unappetitliche Serumausscheidung zu kräftig und bei 20° trat entweder keine Gerinnung ein oder erst nach längerer Zeit. An den selbst hergestellten Mazunproben mußten wir stets die zu wenig intensive Gerinnung tadeln.

### Mazunprobe II.

Dieses Mazun ist gegenüber der ersten Probe dickflüssiger, im Geschmack weniger stark sauer, aber es fehlt ihm das Erfrischende, Pikante, wie auch der angenehme Fettsäureestergeruch beinahe vollständig fehlt. Wir vermuteten richtig, wie sich später herausstellte, daß dieses Mazun noch zu jung zum Genusse war. Im Präparat im hängenden Tröpfchen herrschten die Langstäbchen (6—8  $\mu \times 1$ —1,2  $\mu$ ) gegenüber den Hefen weit vor, welche letztere beinahe ausnahmslos in lebhafter Sprossung begriffen waren.

Es war uns bei Verarbeitung dieser Probe in erster Linie darum zu tun, die bisher nicht kultivierbaren Langstäbchen in Reinkultur zu erhalten. Wir vermuteten, daß der zur Isolierung dienende Nährboden entschieden sauer reagieren müsse, um die offenbar an hohen Milchsäuregehalt der Umgebung angepaßten Langstäbchen zur Entwicklung zu veranlassen. Wir legten deshalb von folgenden Nährböden mit und ohne Milchsäurezusatz geeignete Verdünnungen an: Milchzuckeragar hohe Schichtkultur bei 20° und 37°, Molkenagar hohe Schicht bei 37°, Molkenagarplatten bei 37° und Molkengelatineplatten bei 20°.

Die erhaltenen Kulturen bewiesen aber, daß ein Zusatz von Milchsäure zu den sonst schwach alkalisch reagierenden Nährböden nicht notwendig ist zur Entwicklung der gesuchten Langstäbchen, da dieselben nicht nur in der Milchzuckeragar hohen Schichtkultur bei 37° mit Säurezusatz wuchsen, sondern auch auf den Molkenagarplatten bei 37° und in der Molkenagar hohen Schichtkultur bei 37°, welche beide letzteren Nährmedien keinen Zusatz von Milchsäure erhalten hatten. Die gewachsenen Langstäbchenkolonien waren klein (nach 9 Tagen erst von  $\frac{1}{2}$  bis 1 mm Durchmesser) und flockig. Die mikroskopische Untersuchung dieser Kolonien ergab 3—6  $\mu$  lange und 0,9  $\mu$  breite vollständig unbewegliche Stäbchen, welche die mannigfaltigsten Involutionen zeigten und stark körnigen Inhalt aufwiesen. Leider wuchs von den auf Molkenagar-Stich und -Strich gemachten Abimpfungen keine einzige. Wahrscheinlich hatte das Wachstum auf den nicht zusagenden Nährböden die Mikroben so sehr geschwächt, daß sie sich nicht mehr weiterentwickeln vermochten.

Auch aus der 12 Tage bei 20° gestandenen Mazunprobe II, die stark eingetrocknet war und eine graugrüne Schimmeldecke besaß, konnten mittels Molkenagarplatten bei 37° die erwünschten Langstäbchen als flockige Kolonien isoliert werden, ohne daß es gelang, sie erfolgreich weiterzuimpfen.

Auf sämtlichen Nährböden mit und ohne Säurezusatz gediehen die Hefen sehr kräftig, ja wir erhielten den Eindruck, daß die Hefen auf den Platten mit Milchsäurezusatz einen Teil der Milchsäure aufgezehrt haben, indem eine bedeutende Aufhellung des Agars stattfand. Andere Organismen konnten wir keine isolieren, es sei denn, daß einige zufällige Verunreinigungen erwähnt werden sollen.

Eine kleine Oese dieses Mazun in sterilisierte Milch geimpft und zu 37° gestellt, brachte dieselbe schon nach 12 Stunden zum festen gallertigen Gerinnen bei schwacher Serumabscheidung. Im mikroskopischen Bilde waren vollständig unbewegliche Langstäbchen (3—10  $\mu \times 0,9 \mu$ ) wahrnehmbar und dazwischen in Sprossung begriffene Hefezellen. Angenehmer Duft nach Tafelobst fiel sofort auf.

### Mazunprobe III.

Die Probe gelangte erst nach siebentägigem Aufenthalt bei 20° zur Verarbeitung. Die reinweiße, nur schwache Serumabscheidung zeigende Kaseinmasse war an der Oberfläche mit einer dünnen Schimmelschicht bedeckt, besaß aber noch angenehmen Fettsäureestergeruch und zeigte im mikroskopischen Bilde neben den bekannten Langstäbchen sehr zahlreiche Hefezellen. Auf den angelegten Molkengelatineplatten bei 20° wuchsen nur die Hefen, während auf den Molkenagarplatten bei 37° und in der Molkenagar hohen Schichtkultur bei 37° sich auch flockige

Kolonieen entwickelten, welche die Langstäbchen enthielten. Außerdem zeigten sich in der hohen Schicht mit Molkenagar einige Kolonien vom Typus des *Bacterium Güntheri* L. et N.

An den bisher beschriebenen drei Mazunproben, welche alle von Zürich stammten, sowie an den daraus selbst hergestellten dicken Milchen, fiel uns beinahe immer die zu weiche Konsistenz und eine unappetitliche, wenngleich schwache Serumausscheidung auf. Die vierte, direkt aus Konstantinopel importierte Mazunprobe lieferte denn auch in der Folge Mazun von größerer Festigkeit und bei zweckmäßiger Herstellung auch von fehlender Ausscheidung von Serum. Wir haben deshalb das Hauptgewicht unserer Untersuchung auf das eingehende Studium dieser Probe und des daraus gewonnenen Materiales gelegt.

#### Mazunprobe IV.

Die soeben mit der Post eingetroffene Probe ist rein weiß, ohne Serumabscheidung, dickflüssig wie zu stark eingedunstete kondensierte Milch mit intensivem, aber reinem Geschmack nach saurem Rahm und schwachem Geruch nach Fettsäureestern. Im gefärbten Ausstrichpräparat, das zuvor mit Chloroform entfettet worden war, sind zahlreiche unbewegliche Stäbchen von 3–8  $\mu$  Länge und 0,9  $\mu$  Breite wahrzunehmen, meist einzeln, seltener zu zwei in kurzer Kette. Daneben finden sich in der Zahl zurücktretend nur vereinzelt in Sprossung befindliche Hefezellen mit körnigem Inhalte, sowie ein Mikroorganismus von 1,5  $\mu$  Länge und 0,9  $\mu$  Breite mit abgerundeten Enden, den wir in den Mazunproben von Zürich nie zu beobachten die Gelegenheit hatten. Diese unbeweglichen Kurzstäbchen waren entweder einzeln, meist aber zu 2 bis 4 in kurzen Ketten und erinnerten lebhaft an ungewöhnlich große Exemplare von *Bacterium Güntheri* L. und N., doch fehlte die für jene Art charakteristische Zuspitzung an den Polen vollständig. Alle drei Organismen färbten sich sehr lebhaft nach Gram. Zur Neutralisation von 20 ccm der Mazunprobe IV waren 43,3 ccm  $\frac{n}{16}$  NaOH nötig, was uns den beinahe bis zur Ungenießbarkeit gesteigerten Säuregeschmack dieser dicken Milch erklärlich macht.

Von diesem Ausgangsmaterial wurden Molkenagarplatten, Molkenagar hohe Schichtkultur und Milchzuckeragar hohe Schichtkultur bei 37°, sowie Molkengelatineplatten bei 20° angelegt.

Eine etwas zu dicht besäte, aber doch noch brauchbare Molkenagarplatte, 3 Tage bei 37° gestanden, zeigte rund 50 Hefekolonien und ca. 300 kleine flockige Kolonien, die aber auf der nächsten Verdünnungsplatte bis 1 mm Durchmesser erreichten. Durch das bloße mikroskopische Bild der Hefekolonien glaubten wir innerhalb derselben drei Typen auseinanderhalten zu müssen, obwohl wahrscheinlich bei Berücksichtigung physiologischer Merkmale bedeutend mehr Typen hätten unterschieden werden können. Der Zahl nach war ein Typus weit vorherrschend und erwies sich in der Folge als allein notwendig zur Herstellung eines guten Mazun. Die drei Hefetypen wurden durch Plattenpassage auf ihre einheitliche Natur geprüft und zu weiteren Versuchen auf Molkenagarstrich aufbewahrt. Die flockigen Kolonien bestanden aus 2–6  $\mu$  langen und 0,8  $\mu$  breiten unbeweglichen Stäbchen, meist zu Ketten angeordnet und mehr oder weniger stark involviert. Auf sterilisierte Milch übertragen, brachten diese Langstäbchen bei 37° schon nach 14 Stunden gallertige Gerinnung hervor, wobei aber das Kasein sich

etwas kontrahierte und eine ca.  $\frac{1}{2}$  cm dicke Serumzone ausschied. In der Milch zeigten die Stäbchen wieder das normale Wachstum und keine Involutionsformen mehr. In Peptonschotte bei  $37^{\circ}$  übertragen, bildeten die Langstäbchen schon nach 14 Stunden eine kräftige Trübung und waren im mikroskopischen Bilde sehr typisch und in normaler Form gewachsen. Im Peptonschottenagarstich endlich ist nach 2 Tagen bei  $37^{\circ}$  sehr kräftiges, fakultativ anaërobes Wachstum zu konstatieren, begleitet von kräftiger Säurebildung.

In Molkenagar hohe Schichtkultur entwickelten sich nach 3 Tagen bei  $37^{\circ}$  zahlreiche Kolonien, die zu rund 90 Proz. von flockigem Typus waren und involvierte Langstäbchen enthielten. Etwa 10 Proz. der Kolonien aber waren weiß punktförmig und zeigten im mikroskopischen Bilde ziemlich stark involvierte Formen jenes *Bact. Güntheri* ähnlichen Organismus, den wir im Präparat im hängenden Tröpfchen des Ausgangsmateriales schon wahrgenommen hatten. In sterilisierte Milch eingepfht, brachte die Mikrobe die Flüssigkeit bei  $30^{\circ}$  in 15 Stunden zur gallertigen Gerinnung. Das Gerinnsel enthielt die Organismen in ihrer ursprünglichen normalen Form.

Die geeignete Verdünnung der hohen Schichtkultur mit Milchzuckeragar zeigte nach 3 Tagen bei  $37^{\circ}$  ca. 50 weiße punktförmige Kolonien, welche die Langstäbchen in sehr stark involvierten Formen enthielten. Schlangen- und bretzelförmige, sowie stark aufgeblasene Gebilde ließen hinter diesen Involutionsformen alles eher vermuten als mißbildete Langstäbchen.

Auf den Molkengelatineplatten bei  $20^{\circ}$  wuchsen nur Hefekolonien, die wir aber nicht weiter verfolgten.

Je eine große Oese des Ausgangsmateriales wurde in Gläschen mit sterilisierter Milch übertragen und zu  $37^{\circ}$ ,  $30^{\circ}$  und  $20^{\circ}$  gestellt.

Nach 16-stündigem Aufenthalt war die geimpfte Milch bei  $37^{\circ}$  fest geronnen, mit schwacher Serumabscheidung bei angenehmem Geruch nach Fettsäureestern. Im mikroskopischen Bilde waren neben den an Zahl vorherrschenden Langstäbchen ( $5-10 \times 0,9 \mu$ ) einige Hefen, aber keine an *Bact. Güntheri* erinnernden Organismen wahrzunehmen. Zur Neutralisation der 20 ccm messenden Kultur waren  $31,2 \text{ ccm } \frac{n}{10} \text{ NaOH}$  notwendig.

Bei  $30^{\circ}$  war die geimpfte Milch in 16 Stunden auch vollständig dick gallertig geronnen, aber ohne daß Serum ausgetreten wäre. Ein angenehmer, an Obst erinnernder Geruch war wahrzunehmen. Im Präparate im hängenden Tröpfchen fanden sich neben den Langstäbchen auch zahlreiche Hefezellen, sowie die an *Bact. Güntheri* erinnernden Mikroben. Die Neutralisation der 20 ccm Milch trat bei Zugabe von  $23,6 \text{ ccm } \frac{n}{10} \text{ NaOH}$  ein.

Bei  $20^{\circ}$  war die Milch nach 16 Stunden noch vollständig unverändert und enthielt im mikroskopischen Präparate auch nur sehr spärliche Langstäbchen. Zur Neutralisation waren nur  $3,8 \text{ ccm } \frac{n}{10} \text{ NaOH}$  erforderlich.

Aus diesen Versuchen ergibt sich wieder wie früher, daß die optimale Temperatur zur Mazunbereitung in der Nähe von  $30^{\circ}$  liegt, sie ergeben aber im Gegensatz zu früher als weiteren, zur Herstellung des Mazun nötigen Mikroorganismus neben den Langstäbchen und den Hefen ein *Bact. Güntheri*-ähnliches Bakterium, bei dessen Anwesenheit die sonst öfters eintretende Serumabscheidung unterbleibt und gleichzeitig das Mazun in seiner Konsistenz steifer wird.



Wir hielten es für zweckmäßig, die weitere Herstellung von Mazunproben selbst an die Hand zu nehmen, um einerseits zu Untersuchungszwecken stets frisch gewonnene dicke Milch zur Verfügung zu haben und zu verfolgen, ob das Produkt beim Weiterimpfen nicht etwa degenerieren werde, andererseits aber auch, um Mazun für Genußzwecke zu beschaffen, da wir seinen Einfluß auf den menschlichen Körper in unseren Klimaten an uns selbst einigermaßen zu eruieren gedachten. Zu dem Zwecke wurde Kuhmilch aufgekocht, möglichst warm in Bechergläser abgefüllt und mit Glasdosen zugedeckt. Nach dem Abkühlen auf Bluttemperatur wurde die Milch mit einem kleinen Rest der früher zubereiteten Mazunprobe gut vermischt und zu 30° in den Thermostaten gestellt. Wir züchteten so nach und nach 17 Generationen des ursprünglich aus Konstantinopel bezogenen Mazun selbst heran und können mitteilen, daß sämtliche Proben in Aussehen, Geschmack, Geruch und mikroskopischem Bild als Primaware zu bezeichnen waren und keine Degeneration erkennen ließen.

Es würde zu weit führen, diese 17 Proben hier zu beschreiben, wie wir es in unseren Notizen taten, um auffällig auftretende Variationen in Aussehen, Geschmack oder Geruch festhalten zu können. Wir beschränken uns deshalb auf die kurze Charakterisierung derjenigen Proben, von welchen wir auch gleichzeitig mit der Beschreibung Kulturen anlegten.

#### Selbst zubereitetes Mazun fünfte Generation.

Beim Nachsehen nach 14 Stunden nach dem Impfen war die Milch bei 30° sehr fest geronnen, rein weiß, ohne Serumabscheidung. Geschmack erfrischend, schwach sauer und aromatisch nach Obst, Geruch angenehm nach Fettsäureestern. Im mikroskopischen Bilde waren in ungefähr gleicher Individuenzahl zu sehen: Langstäbchen, *Bact. Güntheri*-ähnliche Kurzstäbchen und Hefen. Die Probe wurde verarbeitet auf Platten von Molkengelatine bei 20°, Molkenagar und Peptonschottenagar bei 30° und Peptonschottenagar hohe Schichtkultur bei 30°.

Auf den Molkengelatineplatten entwickelten sich nur Hefen. Die Molkenagarplatten brachten neben den Hefen auch die Langstäbchen in flockigen Kolonien stark involviert zur Entwicklung. Die Peptonschottenagarplatten zeigten außer den großen Hefe- und den flockigen Langstäbchenkolonien auch kleine, weiße Kolonien, welche die an *Bact. Güntheri* erinnernden Mikroorganismen beherbergten, während in der Peptonschottenagar hohen Schichtkultur sich nur die beiden letzteren Mazunorganismen entwickelten.

#### Selbst zubereitetes Mazun zehnte Generation.

Schon nach 5-stündigem Aufenthalt bei 30° war die Milch sehr fest, rein weiß, ohne Serumabscheidung geronnen, wobei allerdings bemerkt werden muß, daß die verwendete Impfmenge relativ groß war, welcher Umstand, wie wir später noch sehen werden, die bis zum Eintreten der Gerinnung nötige Zeit bedeutend abzukürzen vermag. Die Rahmdecke war an mehreren Stellen durch darunterliegende Gasblasen schwach emporgewölbt. Dem mit einwandfreiem Geschmack ausgestatteten Produkt entströmte ein angenehmer Tafelobstduft. Im Präparat im hängenden Tröpfchen traten die *Güntheri*-ähnlichen Kurzstäbchen an Zahl gegenüber den Langstäbchen und Hefen etwas zurück. Die Verarbeitung

der Probe auf Platten von Molkengelatine und Peptonschottenagar, sowie auf Peptonschottenagar hohe Schichtkultur ergab keine bemerkenswerten Unterschiede gegenüber den Resultaten, welche bei der fünften Generation gewonnen worden waren.

#### Selbst zubereitetes Mazun dreizehnte Generation.

Nach 5 Stunden war das Kasein fest gallertig geronnen, ohne daß Serum abgeschieden worden wäre. Geschmack und Geruch lassen nichts zu wünschen übrig. Im mikroskopischen Bilde sind die Hefen der Zahl nach gegenüber den Lang- und Kurzstäbchen in den Hintergrund gedrängt. Zur Neutralisation von 20 ccm dieses Mazun sind 9 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH notwendig. Die angelegten Peptonschottenagarplatten brachten neben zahlreichen Hefekolonien auch weiße punktförmige Kolonien zur Entwicklung, welche die in diesem Falle stark involvierten Kurzstäbchen enthielten neben flockigen Kolonien, die ebenfalls krankhafte Formen der Langstäbchen bargen. In Peptonschottenagar hohe Schichtkultur waren in ungefähr gleicher Zahl Kolonien zu sehen, welche die stark involvierten Bact. Güntheri-ähnlichen Kurzstäbchen oder die normal ausgebildeten Langstäbchen enthielten.

Das Verhalten der verschiedenen Mazunproben beim Aufbewahren können wir kurz dahin zusammenfassen, daß bei 20° sich nach 7—16 Tagen eine mehr oder weniger derbe Schimmeldecke entwickelte, daß eine Kontraktion des Kaseins, begleitet von Serumauspressung, erfolgte und die Kaseinmasse in den unteren Partien deutlich fadenziehend wurde. Nach 3—4 Wochen traten zufolge weiterer Zersetzungsprozesse übelriechende Produkte auf, welche die Beseitigung der Proben erforderten. Die zur Neutralisation von 20 ccm 10—14 Tage alten Mazun nötige Menge  $\frac{n}{10}$  NaOH schwankte zwischen 21,2 und 36,0 ccm.

Es schien uns von Interesse, den Einfluß festzustellen, welchen die verwendete Impfmenge auf die Gerinnungszeit des Mazuns auszuüben vermag. Zu dem Zwecke wurde frisch aufgekochte Milch möglichst warm in vorher sterilisierte und mit halben Petri-Schalen bedeckte Bechergläser gegeben (je 2 Deciliter) und mit verschiedenen Mengen Mazun geimpft, welches zur Neutralisation von 20 g 28,2 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH bedurfte, nachdem auf Bluttemperatur abgekühlt worden war. Zu 30° gestellt, konnten wir bezüglich der Gerinnungszeit, der auftretenden Geruchsstoffe und der Menge der gebildeten Säure folgende Beobachtungen machen, wobei bemerkt werden muß, daß in der angegebenen Säurezahl die Säure des als Impfmateriel verwendeten Mazun inbegriffen ist.

Impfmenge 10 g. Die Milch ist nach 6 Stunden fest geronnen, ohne Serumabscheidung, bei intensivem Geruch nach Fettsäureestern. Zur Neutralisation von 20 g sind 13,2 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH notwendig.

Impfmenge 1 g. Die Milch ist nach 8 Stunden fest geronnen mit ganz schwacher Serumzone unter dem Rahm. Intensiver Mazungeruch. 20 g werden mit 11,8 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH neutralisiert.

Impfmenge  $\frac{1}{10}$  g. Nach 10 Stunden ist die Milch dick gelegt bei schwacher Ausscheidung von Serum unter dem Rahm. Angenehmer Mazungeruch. Die Neutralisation von 20 g tritt beim Zufügen von 11,7 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH ein.

Impfmenge  $\frac{1}{100}$  g. Die Milch ist nach 12 Stunden fest geworden, wobei sich eine dünne Serumzone unter dem Rahm bemerkbar

macht, gut wahrnehmbarer, angenehmer Duft nach Tafelobst. Zur Neutralisation von 20 g sind 15,8 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH notwendig.

Impfmenge  $\frac{1}{10000}$  g. Das Festwerden der Milch erfolgt nach 14 Stunden. Unter dem Rahm ist eine schwache Serumzone wahrnehmbar, angenehmer Fettsäureestergeruch. 20 g sind nach dem Zufügen von 12,7 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH neutral.

Impfmenge  $\frac{1}{100000}$  g. Nach 16 Stunden ist die Milch fest geronnen. Bei schwachem Mazungeruch finden sich im ausgepressten Serum sehr reichlich Langstäbchen neben weniger zahlreichen Bact. Güntheri ähnlichen Kurzstäbchen und Hefen. Die in 20 g produzierte Säure wird durch 15,8 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH neutralisiert.

Impfmenge  $\frac{1}{1000000}$  g. Die Milch ist nach 18 Stunden dickgelegt. Es ist kein Geruch nach Fettsäureestern mehr wahrzunehmen, sondern es ist nur der Geruch nach gewöhnlicher saurer Milch zu konstatieren. Das ausgepresste grünlichgelbe Serum sammelte sich in einer Zone von ca. 3 mm Breite unter dem Rahm an und in demselben sind im Präparat im hängenden Tröpfchen keine Hefen mehr, aber zahlreiche an Bact. Güntheri erinnernde Kurzstäbchen, sowie auch einige Langstäbchen zu sehen. Zur Neutralisation von 20 g sind 13,1 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH notwendig.

Impfmenge  $\frac{1}{10000000}$  g. Die Milch gerinnt nach 20 Stunden bei einem Geruch, der an gewöhnliche saure Milch erinnert. Das Kasein ist jetzt nicht gleichmäßig, sondern ziegerig geronnen und es finden sich darin zahlreiche kleine Serumnester. Die Hauptmenge des ausgepressten Serums hat sich aber unter dem Rahm als 5 mm breite grünlichgelbe Zone angesammelt und enthält neben zahlreichen Bact. Güntheri ähnlichen Organismen nur einige Langstäbchen. Die in 20 g produzierte Säuremenge wird durch 10,6 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH neutralisiert.

Aus diesem kleinen Versuche können wir den Schluß ziehen, daß mit abnehmender Impfmenge sich die zur Gerinnung nötige Zeit vergrößert. Das Ergebnis, daß in regelmäßiger Weise bei zehnmal kleinerer Impfmenge die Gerinnungszeit um zwei Stunden größer wird, ist wohl nur zufällig. Interessant ist der Befund, daß zur Erzeugung eines guten Mazun eine relativ große Menge alten Produktes zweckmäßigerweise verwendet wird, da zu kleine Impfmengen entweder gar kein typisches Mazun zu erzeugen vermögen, oder doch eine dicke Milch liefern, die zufolge stärkerer oder schwächerer Serumabscheidung viel von ihrem appetitlichen Aussehen eingebüßt hat.

Aus der von Konstantinopel direkt importierten Mazunprobe, sowie aus den mit Hilfe derselben erzeugten Mazunproben, welche sich alle durch typischen Geschmack und Geruch auszeichneten, konnten wir also stets drei Mikroorganismen isolieren, oder doch wenigstens mikroskopisch in der Masse erkennen, nämlich ein Langstäbchen, ein an Bact. Güntheri erinnerndes Kurzstäbchen und Hefen. Es galt nun festzustellen, ob mit Hilfe der Reinkulturen dieser drei Arten ein gutes Mazun hergestellt werden könne und bei positivem Ausfall des Versuches zu eruieren, ob überhaupt alle drei Organismen oder vielleicht nur ihrer zwei oder sogar nur einer hierzu notwendig seien.

### Zubereitung von Mazun mittels Reinkulturen.

1. Versuch. Die durch mehrmaliges Züchten auf festen Nährböden als absolut rein erkannten drei Mikroorganismen wurden je in sterilisierte

Milch übertragen und dieselbe behufs rascher Vermehrung der eingesäten Keime zu 30° gestellt. Diese 15 Stunden bei 30° aufbewahrten Milchproben dienten für die folgenden Impfungen als Ausgangsmaterial, indem je ca. 3 g resp. 3 ccm der betreffenden Milchkultur zur Verwendung gelangten. Zu 2 Deciliter aufgekochter, möglichst warm in nicht sterilisierte Bechergläser abgefüllter Milch wurden nach Abkühlen derselben folgende Zusätze in Form von Milchkulturen gemacht:

- I. Hefe allein.
- II. Langstäbchen allein.
- III. Bact. Güntheri ähnlicher Organismus allein.
- IV. Hefe kombiniert mit Langstäbchen.
- V. Hefe kombiniert mit dem Bact. Güntheri ähnlichen Organismus.
- VI. Hefe kombiniert mit dem Bact. Güntheri ähnlichen Organismus und dem Langstäbchen.
- VII. Ungeimpfte Kontrolle.

Leider ergab der Versuch aus dem Grunde zum Teil unklare Resultate, weil eine Infektion mit dem gewöhnlichen Bact. Güntheri L. et N. stattgefunden hatte (wahrscheinlich durch die nicht sterilisierten Bechergläser). Das verunreinigende Bact. Güntheri vermochte besonders da störend aufzutreten, wo nicht intensive Säurebildner gleichzeitig eingeimpft worden waren, also namentlich in I und VII, während es bei Anwesenheit der Langstäbchen gar keinen Einfluß geltend machen konnte, ja sich gar nicht oder nur sehr spärlich entwickelte. So lieferte denn VI ein sowohl in Aussehen wie Geschmack und Geruch vorzügliches Mazun, das keine Serumausscheidung zeigte und im mikroskopischen Bilde nur die drei eingeimpften Organismen in ungefähr gleicher Individuenzahl erkennen ließ. Probe IV lieferte ein leidlich schmackhaftes Mazun, das aber zu starke Serumausscheidung aufwies, während die übrigen Proben keine genießbaren Produkte ergaben. Das Auftreten der Hefe rief zwar überall die erwünschten angenehmen Geschmacks- und Geruchsstoffe hervor, aber die begleitenden säureproduzierenden Lang- resp. Kurzstäbchen bedingten mit der einzigen Ausnahme von VI mehr oder weniger starke Serumausscheidung. In der nicht geimpften Kontrolle war auffallenderweise auch das Austreten von hellgelbem Serum aus dem gallertig geronnenen Kasein zu konstatieren. Im mikroskopischen Bilde herrschte Bact. Güntheri L. et N. gegenüber vereinzelt auftretenden, an Bac. Megatherium De Bary erinnernde Stäbchen weit vor.

2. Versuch. Belehrt durch den ersten Versuch, bei welchem eine verunreinigende Bakterienart die Ergebnisse zum Teil stark trübte, erhitzen wir jetzt die Milch in den bedeckten Bechergläsern 10 Minuten lang im Dampftopf auf 98°, kühlen auf Bluttemperatur ab und impfen wie beim 1. Versuch mit 3 ccm resp. 3 g einer 15 Stunden bei 30° gestandenen Milchkultur der gewünschten Organismenart. Nach 24-stündigem Aufenthalt bei 30°, wobei auch ein nicht geimpftes Kontrollglas aufgestellt wurde, zeigten die Proben folgendes Aussehen:

I (Hefe allein). Milch unverändert, sehr ausgeprägter, angenehmer Geruch nach Fettsäureestern. Im Präparate im hängenden Tropfen sind nur sehr vereinzelt Hefezellen zu bemerken. Zur Neutralisation von 20 ccm Milch sind 3,7 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH notwendig.

II (Langstäbchen allein). Die Milch ist sehr fest gallertig geronnen, so daß das Becherglas horizontal gelegt werden kann, ohne

daß die Gefahr besteht, daß die Kaseinmasse ausfließt. Geruch nach gekochter Milch; Serum wurde keines ausgeschieden. Im mikroskopischen Bilde sind sehr zahlreiche, gesund aussehende Langstäbchen zu konstatieren. Um 20 g dieser dicken Milch zu neutralisieren, sind 16,6 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH nötig.

III (Bact. Güntheri-ähnlicher Organismus allein). Die Milch ist gallertig geronnen, fließt aber noch träge und zeigt schwache Serumausscheidung. Geruch nach gekochter Milch. Im hängenden Tröpfchen sind vereinzelt die gesuchten Kurzstäbchen wahrzunehmen. Die in 20 g gebildete Säure wird durch 7,6 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH neutralisiert.

IV (Hefe kombiniert mit Langstäbchen). Die Milch ist fest gallertig geronnen, fließt nicht mehr, aber die Serumabscheidung ist bedeutend (ca. 10 ccm). Angenehmer Geruch nach Fettsäureestern. Mit dem Mikroskope sind sowohl Langstäbchen wie Hefen in ungefähr gleicher Zahl festzustellen. Die in 20 g vorhandene Säure wird durch 16,6 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH neutralisiert.

V (Hefe kombiniert mit dem Bact. Güntheri-ähnlichen Organismus). Verhalten wie bei IV, nur sind hier die Langstäbchen durch die Kurzstäbchen vertreten und erfordert die in 20 g vorhandene Säure zur Neutralisation nur 7,6 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH.

VI (Hefe kombiniert mit dem Bact. Güntheri-ähnlichen Organismus und dem Langstäbchen). Das entstandene Produkt genügt in jeder Hinsicht den Anforderungen, welche an ein Primamazun gestellt werden können. Das fest gallertig geronnene Kasein weist gar kein ausgeschiedenes Serum auf, unter dem Rahm finden sich einige Gasblasen und von der Masse, die sich auch im Geschmack als vorzüglich erweist, steigt ein angenehmer Duft nach Tafelobst auf. Werden die 3 enthaltenen Mikroorganismen der Individuenzahl nach aufgezählt, so stehen die Langstäbchen an erster Stelle, ihnen folgen die Kurzstäbchen und die Hefen. Die in 20 g enthaltene Säure wird durch 28 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH beglichen.

VII. In der ungeimpften Kontrolle machen sich nach 24 Stunden bei 30° noch keine Veränderungen bemerkbar. Der Geruch erinnert nur an gewöhnliche gekochte Milch und im hängenden Tröpfchen sind nur sehr vereinzelt Stäbchen wahrzunehmen vom Typus des Bac. Megatherium de Bary und des Bac. mesentericus vulgaris Flügge.

Wir verfolgten die Proben bis zum 48-stündigen Aufenthalt bei 30°, ohne aber weitere wesentliche Unterschiede in ihrem Aussehen konstatieren zu können, weshalb wir eine erneute Beschreibung hier übergehen und nur die Zahl der Kubikcentimeter  $\frac{n}{10}$  NaOH angeben, welche zur Neutralisation von 20 ccm resp. 20 g der einzelnen Proben nach 48-stündigem Aufenthalte bei 30° nötig waren.

I. 6,1, II. 28,8, III. 10,6, IV. 30,2, V. 10,8, VI. 28,4, VII. 3,6.

Die entsprechend wie Versuch 2 durchgeführten Versuche 3, 4 und 5 führten zu vollständig entsprechenden Resultaten, so daß wir wohl den nicht übereilten Schluß ziehen dürfen, daß mit den Reinkulturen der aus Mazun isolierten 3 Mikroorganismen ein allen Anforderungen genügendes Präparat erzeugt werden kann. Und zwar sind zur Erlangung eines guten Produktes alle 3 Mikroben, Hefen wie Langstäbchen und Bact. Güntheri-ähnliche Kurzstäbchen notwendig, denn in den Proben IV und V, wo entweder das Kurzstäbchen oder das Langstäbchen nicht zugesetzt worden waren, ließen sich zwar angenehme Geruchsstoffe

wahrnehmen, aber beim Fehlen der Langstäbchen (V) gebrach es an der nötigen Säuremenge und bei beiden Proben (IV und V) war ziemlich viel Serum ausgeschieden worden. Letzterer Umstand aber setzt das appetitliche Aussehen des Mazun um ein bedeutendes herunter. Es ist uns zwar nicht klar, wie 2 Mikroorganismen (Langstäbchen und Kurzstäbchen), je einzeln für sich mit Hefe kombiniert, in Milch bedeutende Ausscheidung von Serum bedingen, nun beide zusammen mit dieser gleichen Hefe ein Auspressen von Serum nicht mehr hervorrufen. Die Rolle der einzelnen Organismen bei der Zubereitung des Mazun ist nach den vorliegenden Versuchen wohl die, daß die Hefe aus Milchzucker angenehme Geschmacks- und Geruchsstoffe (auch Alkohol) produziert, das Langstäbchen die Hauptmenge der vorhandenen Säure aus dem Milchzucker erzeugt, während der an *Bact. Güntheri* erinnernde Organismus das Erzeugnis in einer Weise günstig beeinflusst, die sich äußerlich im Unterbleiben der unangenehmen Serumausscheidung kundgibt, die aber bezüglich ihres Anteils am Gesamtmechanismus der Mazunentstehung noch der näheren Aufklärung bedarf. Immerhin konnten wir die Tatsache konstatieren, daß ohne dieses *Bact. Güntheri*-ähnliche Kurzstäbchen kein tadelloses Mazun bereitet werden kann.

Es galt ferner festzustellen, ob das aus Reinkulturen der beteiligten Organismen hergestellte Mazun leicht eingehe resp. degeneriere oder ob es, in neue Milchproben übertragen, aus ihnen stets das spezifische Produkt herzustellen vermöge. Durch 5 Generationen hindurch übertrugen wir von den Proben I—VI je ca. 3 g resp. 3 ccm in 2 Deciliter frisch aufgekochte Milch und konnten konstatieren, daß keine dieser 5 Generationen auch nur im geringsten wesentlich von den anderen abwich, daß somit das aus Reinkulturen gewonnene Mazun ebenso prompt seine Eigenschaften auf eine damit geimpfte Milchprobe überträgt, wie das aus Konstantinopel importierte Produkt. Eine entsprechende Konstanz war bezüglich des Auftretens der von den reinkultivierten Organismen in Milch hervorgerufenen Veränderungen zu verzeichnen. Um Wiederholungen zu vermeiden, verzichteten wir darauf, die diesbezüglich angelegten Protokolle hier in extenso wiederzugeben und wollen nur von der 2., 3. und 4. Generation die jeweils konstatierten Säurezahlen angeben, welche die Anzahl Kubikcentimeter  $\frac{n}{10}$  NaOH darstellen, die zur Neutralisation von 20 ccm resp. 20 g der betreffenden Probe notwendig waren.

2. Generation nach 24-stündigem Aufenthalt bei 30°:  
IV. 28,2, V. 9,2, VI. 27,4, VII. 4,6.

2. Generation nach 3-tägigem Aufenthalt bei 30°:  
IV. 36,0, V. 12,6, VI. 30,0, VII. 10,0.

3. Generation nach 24-stündigem Aufenthalt bei 30°:  
IV. 25,6, V. 9,4, VI. 24,8, VII. 4,6.

3. Generation nach 3-tägigem Aufenthalt bei 30°:  
IV. 30,0, V. 12,0, VI. 27,2, VII. 10,0.

4. Generation nach 24-stündigem Aufenthalt bei 30°:  
IV. 21,2, V. 11,4, VI. 18,4, VII. 3,4.

4. Generation nach 48-stündigem Aufenthalt bei 30°:  
IV. 20,6, V. 10,4, VI. 28,8, VII. 9,2.

Wie die Produktion von Säure durch Mazun in Milch resp. Peptonschotte, erzeugt bei verschiedenen Temperaturen, mit fortschreitender Zeit vorwärtsschreitet, sollen die beigegebenen Tabellen 1 und 2 zeigen. Zu je 20 ccm sterilisierter Milch resp. Peptonschotte wurde eine große

Oese Mazun gegeben und der Verlauf der Säurebildung verfolgt. Die eingetragenen Zahlen geben die Anzahl Kubikcentimeter  $\frac{n}{10}$  NaOH an, welche zur Neutralisation notwendig waren.

Tabelle 1.  
Säureproduktion durch Mazun in Milch bei 20, 30 und 37°.

Zeit in Std.	20°	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH	Zeit in Std.	30°	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH	Zeit in Std.	37°	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH
0	Kontrolle	3,3	0	Kontrolle	3,4	0	Kontrolle	3,4
4	Unverändert	3,8	4	Unverändert	3,8	4	Unverändert	4,6
8	"	4,0	8	"	4,6	8	Gallertig geronnen, schwache Serum- abscheidung	7,2
12	"	4,0	12	"	7,6	12	do.	15,3
16	"	4,3	16	Gallertig geronnen, ohne Serumab- scheidung	11,7	16	Gallertig geronnen, stärkere Serum- abscheidung	25,4
20	"	4,6	20	do.	17,0	20	do.	26,2
24	"	4,7	24	do.	21,3	24	do.	29,8
28	"	4,8	28	do.	26,5	28	do.	32,1
32	"	5,0	32	do.	27,5	32	do.	33,7
36	"	5,5	36	do.	29,0	36	do.	33,8
40	"	5,8	40	do.	29,3	40	do.	34,7
44	"	5,9	44	do.	33,6	44	do.	35,2
48	"	6,8	48	do.	33,8	48	do.	35,4
48	Kontrolle	3,3	48	Kontrolle	3,4	48	Kontrolle	3,4

Tabelle 2.  
Säureproduktion durch Mazun in Peptonschotte bei 20, 30 und 37°.

Zeit in Std.	20°	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH	Zeit in Std.	30°	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH	Zeit in Std.	37°	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH
0	Kontrolle	3,9	0	Kontrolle	3,9	0	Kontrolle	3,9
4	Schwache Trüb.	3,9	4	Schwache Trübung	4,2	4	Schwache Trübung	4,1
8	"	3,9	8	"	4,4	8	Stärkere "	4,8
12	"	3,9	12	Starke "	5,2	12	"	6,1
16	Stärkere "	4,2	16	"	11,8	16	Starke "	11,8
20	"	4,5	20	Starke Trübung, Flüssigk. schäumt	14,2	20	Starke Trübung, Flüssigk. schäumt	12,9
24	"	5,1	24	do.	17,2	24	do.	15,0
28	"	5,2	28	do.	21,9	28	do.	17,8
32	"	5,6	32	do.	22,8	32	do.	17,9
36	"	6,0	36	do.	22,9	36	do.	17,9
40	"	7,3	40	do.	23,0	40	do.	17,9
44	"	7,4	44	do.	23,7	44	do.	17,9
48	"	7,6	48	do.	23,8	48	do.	18,0
48	Kontrolle	3,9	48	Kontrolle	3,9	48	Kontrolle	3,9

Schon beim flüchtigen Durchsehen der Tabelle 1 fällt uns auf, wie gewaltig der Einfluß der Temperatur auf die Säurebildung durch Mazun in Milch ist. Während bei 20° die Säureproduktion in 20 ccm Milch nach 48 Stunden nur eine bescheidene ist, nämlich 3,5 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH (nach Abzug der 3,3 ccm, welche zur Neutralisation der verwendeten Milch notwendig waren), beträgt sie in der gleichen Zeit bei 30° 30,4 ccm und bei 37° 32,0 ccm. Erwähnenswert ist auch die langsame, aber stetig fortschreitende Zunahme der Säure in der Milch bei



20°, während bei 30° zwischen der 16. und 28. Stunde und bei 37° zwischen der 8. und 16. Stunde des Vorweilens bei den entsprechenden Temperaturen die stärksten Säurezunahmen konstatiert werden konnten.

In Tabelle 2 berührt uns besonders die Tatsache befremdend, daß die anfänglich raschere Säurezunahme in Peptonschotte bei 37° von der 16. Stunde an nur langsam weiter schreitet und bei der 48. Stunde des Aufenthaltes bei 37° bedeutend hinter dem entsprechenden Resultate bei 30° zurückbleibt.

Weitere Schlüsse aus den Tabellen 1 und 2 abzuleiten, wollen wir unterlassen, weil uns das Material zum Aufstellen von allgemeine Gültigkeit beanspruchenden Sätzen als zu wenig umfangreich erscheint.

Da aus dem Gesagten hervorgeht, daß zur Erzeugung eines allen gestellten Anforderungen genügenden Mazun 3 Mikroorganismen unumgänglich notwendig sind, nämlich eine Hefe, ein Langstäbchen und ein Bact. Güntheri-ähnlicher Organismus, so ist es wohl angezeigt, im folgenden die morphologischen und physiologischen Eigenschaften derselben etwas näher zu charakterisieren. Es scheint uns dies um so mehr gerechtfertigt, als uns in der einschlägigen Literatur keine Mikroben bekannt wurden, mit welchen wir unser Material mit Sicherheit hätten identifizieren können. Die Charakterisierung der Hefe wollen wir aus dem Grunde kurz gestalten, weil wir uns bisher überhaupt mit Hefen wenig befaßten und wir zudem beabsichtigen, diese äußerst interessante Mazunhefe später noch zum Gegenstande einer eingehenderen Untersuchung zu machen. Um Wiederholungen zu vermeiden, verweisen wir hier auch auf das anlässlich der Isolierung der einzelnen Mikroorganismen bei Besprechung der Proben I, II, III und IV Gesagte.

#### Kurze Charakterisierung der Mazunhefe.

Wie wir früher schon mitteilten, isolierten wir aus dem Mazun drei Hefetypen, die sich schon durch morphologische Merkmale scharf trennen ließen. Durch Plattenpassage wurden die drei Typen auf ihre Einheitlichkeit geprüft und durch Ueberimpfen auf einige Nährböden ihre hervorragendsten physiologischen Merkmale zu eruieren versucht. Dabei zeigte sich, daß zwei dieser Typen auch bei mehrtägigem Aufenthalte in Milch bei 37° in derselben keine wahrnehmbaren Veränderungen hervorzurufen vermochten, also kaum bei der Zubereitung des Mazun eine bedeutende Rolle spielen werden. In der Tat zeigten die einschlägigen Versuche, daß sie zur Herstellung dieser aromatischen sauren Milch gänzlich überflüssig sind, während die dritte Art, welche auch als Reinkultur in der Milch spezifische Veränderungen bedingt, unentbehrlich ist. Wir bezeichnen in der Folge diese dritte Art kurz als Mazunhefe.

Auf Molkenagarplatten bei 37° entwickeln sich in 4 Tagen weiße Oberflächenkolonien, kreisrund, von 4–7 mm Durchmesser, mit matter, beinahe mehlig bestäubter Oberfläche. Die einzelnen Zellen sind in ihrer Größe sehr variabel, 5–7  $\mu$  lang und 2,5–4  $\mu$  breit, oval, im Innern mit einer großen Vakuole und mehreren glänzenden Körnern (Glykogen). Die Tiefenkolonien sind meist zusammengesetzt linsenförmig (flügelig) mit einem mittleren Durchmesser von 1,5 mm. Die Zellen schwanken in der Länge von 3–9  $\mu$  und in der Breite von 2–4  $\mu$ , haben homogenen Inhalt oder nur angedeutete Vakuolen und Körner.

Molkengelatinestich bei 20°. Nach 2 Tagen ist schon Gasbildung eingetreten. Im Stich nimmt das Wachstum von oben nach unten deutlich ab, aber an der Oberfläche findet keine Ausbreitung statt. Die größten Zellen sind 10  $\times$  5  $\mu$  und besitzen Vakuolen, während die kleineren nur 4  $\times$  3  $\mu$  messen und homogenen Inhalt aufweisen.

Peptonschotte bei 37°. Die Flüssigkeit ist nach 2 Tagen deutlich getrübt und es zeigt sich an den Wandungen wie am Boden des Gläschens flockiger Niederschlag. Gasbildung ist schon eingetreten und es steigen ununterbrochen kleine Gasblasen auf. Schwacher, aber angenehmer Geruch nach Fettsäureestern ist wahrnehmbar. Die meisten Zellen sind oval und variieren in der Länge zwischen 3 und 6  $\mu$  und in der Breite zwischen 2 und 4  $\mu$ , doch sind auch zahlreiche kugelförmige Zellen mit 3–5  $\mu$  Durchmesser häufig. Die Gasbildung dauerte 2–3 Tage an.



In Milch bei 30 und 37° ist nach 2 Tagen angenehmer Geruch nach Fettsäureestern zu konstatieren, der mit zunehmender Zeit sich kräftig steigert. Die unter der Rahmdecke sich ansammelnden Gasblasen wölben dieselbe empor. Nach Ablauf von 5 Tagen ist die Milch noch flüssig, weist aber starken Geruch und Geschmack nach Fettsäureestern auf. Die Hefezellen zeigen homogenen Inhalt und messen durchschnittlich in der Länge 4, in der Breite 3  $\mu$ .

Die beigegebene Tabelle 3 demonstriert die Säureproduktion der Mazunhefe in Milch und Peptonschotte bei 30°. In der Milch findet nur eine schwache Bildung von Säure statt, die schon nach 2 Tagen ihren annähernden Höhepunkt erreicht hat und auf demselben verharret. In Peptonschotte wird bedeutend intensiver Säure produziert, allein die Menge derselben geht später stark zurück und sinkt unter die Quote der gleichaltrigen Milchkultur.

Tabelle 3.

Säureproduktion der Mazunhefe in Milch und Peptonschotte bei 30°.

Zeit in Tagen	Milch bei 30°	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH	Zeit in Tagen	Peptonschotte bei 30°	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH
$\frac{1}{2}$	Unverändert, angenehmer Geruch	4,8	$\frac{1}{2}$	Starke Trübung	4,9
1	do.	5,8	1	Starke Trübung, Flüssigkeit schäumt	8,3
$1\frac{1}{2}$	Unverändert, starke Gasbildung, angen. Geruch	8,8	$1\frac{1}{2}$	do.	10,6
2	do.	10,4	2	do.	18,2
8	Unverändert, angenehmer Geruch	10,5	8	Starke Trübung, intensiver Bodensatz, angenehmer Geruch	8,1
9	do.	10,5	9	do.	8,2
9	Kontrolle	3,3	9	Kontrolle	3,3

Sowohl in Milch wie in Peptonschotte werden die charakteristischen Geschmacks- und Geruchsstoffe gebildet.

#### Langstäbchenförmiges Milchsäurebakterium aus Mazun.

Die Isolierung desselben gelang, wie wir schon früher mitteilten, auf Molkenagarplatten, in Molkenagar hohe Schichtkultur, sowie in der hohen Schichtkultur von Milchzuckeragar mit oder ohne Zusatz von Milchsäure. Die erhaltenen flockigen Kolonien enthielten aber meist nur involvierte Stäbchen.

Mikroskopisches Aussehen: Die normal ausgebildeten, nicht involvierten Stäbchen erhielten wir auf Platten und in hoher Schichtkultur von Peptonschottenagar bei 37°, in Peptonschotte und Milch bei 30 und 37°. Auf diesen Nährböden waren die Stäbchen je nach Alter und Temperatur 3–10  $\mu$  lang und 0,7–1  $\mu$  breit, an den Enden deutlich abgerundet, in jungen Kulturen mit homogenem Inhalt, später aber mehr oder weniger stark körnig. Auf Molkenagarplatten und in hoher Schichtkultur von Molkenagar dagegen konnten wir Formen wahrnehmen, die allem eher gleichen als Langstäbchen. Tonnen- und knäuelähnliche Gebilde neben keulen- und älchenartigen Zellen boten ein wirres Bild dar. In Peptonschotte übertragen, entwickelten sich aber hieraus wieder normale Formen.

Eigenbewegung konnten wir nie, auch nicht im Kondenswasser junger Agar-Schüttelkulturen, wahrnehmen.

Färbbarkeit: Mit den gebräuchlichen Färbemitteln leicht färbbar, ebenso nach der Gramschen Methode.

Ansprüche an Temperatur, Nährböden und Sauerstoffzutritt. Die optimale Temperatur für die Entwicklung der Langstäbchen liegt bei ungefähr 37°, doch findet noch bei 30° gutes Wachstum statt. Bei 20° dagegen entwickelten sich die langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien auf keinem Nährboden. Bezüglich der Ansprüche an die einzelnen Nährböden verweisen wir auf folgende kleine Zusammenstellung: Mittels Reinkulturen konnten wir auf nachfolgenden Substraten kein Wachstum erhalten: Platten, Stich und hohe Schichtkultur von Milchzuckeragar, obwohl die Isolierung aus Mazun durch Milchzuckeragar hohe Schichtkultur gelungen war, Platten, Stich und Strich von gewöhnlichem Agar, Nähr- und Traubenzuckerbouillon, Röhrchen mit Fleischwasserpepton- und Molkengelatine, sowie auf Kartoffeln. In der hohen Schichtkultur und im Stich erwies sich das Langstäbchen als fakultativ anaerob,

indem es in ersterer in allen Höhen der Agarschicht gut entwickelte Kolonien bildete und im Stich gleichmäßiges Wachstum zeigte bei mangelnder oberflächlicher Ausbreitung. Auf den mit geeigneten Nährböden angelegten Platten kam es, wie wir gleich ausführen werden, zur Bildung ziemlich großer Kolonien.

Platten von Molkenagar und Peptonschottenagar bei 37°. Nach 24 Stunden sind feinste Pünktchen zu erkennen, die nach 3 Tagen zu mehr oder weniger schmutzigweißen Kolonien von 0,7–1,2 mm Durchmesser heranwachsen. Die Oberflächenkolonien haben 1–1,2 mm Durchmesser und zeigen charakteristische parallel verlaufende Anordnung der fadenartig aneinander gereihten Zellen, so daß das Ganze lebhaft an die Kolonien von *Bact. Zopfii* Kurth erinnert. Mit zunehmendem Alter geht diese Eigenschaft verloren und die Bakterienfäden wachsen wirr durcheinander. Die Tiefenkolonien (0,7–0,9 mm Durchmesser) sind flockig, mit meist schwach rostrot gefärbter zentraler Partie.

Hohe Schichtkultur von Molkenagar und Peptonschottenagar bei 37°. Nach 24 Stunden sind die Kolonien als weiße Kügelchen von  $\frac{1}{4}$  mm Durchmesser wahrzunehmen und wachsen nach 4–5 Tagen zu kugeligen, schmutzigweißen, an der Peripherie wolligen, von einem starken Säurehof umgebenen Gebilden heran. In dünn besäten Kulturen, wo die einzelnen Kolonien bis 1,5 mm Durchmesser erreichen, sind dieselben ziemlich stark fadenziehend, so daß Fäden bis zu einer Länge von einem Centimeter mit Leichtigkeit gewonnen werden können.

Stiche in Traubenzucker-, Peptonschotten- und Molkenagar bei 37°. Starkes und gleichmäßiges Wachstum im ganzen Stich; intensive Säureproduktion, wodurch das Agar so stark getrübt wird, daß der Stich kaum mehr wahrgenommen werden kann. An der Oberfläche der trockenen Agarmasse findet keine Ausbreitung statt, wohl aber wird allfällig ausgepreßtes Kondenswasser graulich getrübt.

Striche auf Molken- und Peptonschottenagar bei 37°. Kräftiger, schmutzigweißer, lappiger Belag längs dem Strich mit deutlicher Schollenstruktur. Kondenswasser und Agar werden stark getrübt.

Peptonschotte bei 37 und 30°. Die Flüssigkeit ist schon nach 24 Stunden intensiv getrübt und an den Glaswandungen setzen sich kleine Flöckchen fest, die nach und nach einen kräftigen Bodensatz bilden.

Milch bei 37 und 30°. Bei 37° ist die Flüssigkeit schon nach 12 Stunden fest gallertig geronnen mit feiner Serumzone unter dem Rahm, während bei 30° zum Hervorrufen der entsprechenden Veränderungen 28 Stunden erforderlich waren.

Es schien uns von Interesse, bei den einschneidenden Veränderungen, welche das langstäbchenförmige Milchsäurebakterium in der Milch hervorruft, die Säureproduktion durch dasselbe in Milch und Peptonschotte bei 30 und 37° etwas näher zu verfolgen. Die gewonnenen Resultate sind in den beigegebenen Tabellen 4 und 5 zusammengestellt.

Tabelle 4.  
Säureproduktion durch das Langstäbchen in Milch bei 30° und 37°.

Zeit in Stunden	30 °	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH	Zeit in Stunden	37 °	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH
0	Kontrolle	3,3	0	Kontrolle	3,1
4	Unverändert	3,3	4	Unverändert	3,2
8	"	3,4	8	"	6,8
12	"	3,6	12	Gallertig geronnen ohne Serumausscheidung	14,8
16	"	8,0	16	Gallertig geronnen, mit ziemlich starker Se- rumausscheidung	18,0
20	"	8,4	20	do.	20,8
24	Gallertig geronnen, noch träge fließend	11,2	24	do.	24,0
28	Gallertig geronnen, fest	16,4	28	do.	28,3
32	" " "	20,4	32	do.	28,5
36	" " "	20,9	36	do.	28,8
40	" " "	24,0	40	do.	28,8
44	" " "	28,9	44	do.	28,8
48	" " "	28,9	48	do.	28,9
48	Kontrolle	3,3	48	Kontrolle	3,1

Tabelle 5.  
Säureproduktion durch das Langstäbchen in Peptonschotte bei 30°  
und 37°.

Zeit in Stunden	30°	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH	Zeit in Stunden	37°	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH
0	Kontrolle	5,0	0	Kontrolle	3,9
4	Unverändert	5,0	4	Schwache Trübung	4,0
8	Schwache Trübung	5,0	8	Stärkere Trübung	5,0
12	" "	5,2	12	" "	8,3
16	" "	9,1	16	Starke Trübung	13,7
20	Starke Trübung	9,2	20	" "	15,3
24	" "	10,4	24	" "	15,6
28	" "	10,6	28	" "	16,1
32	" "	10,8	32	" "	19,5
36	" "	11,0	36	" "	19,6
40	" "	11,5	40	" "	21,0
44	" "	11,9	44	" "	21,1
48	" "	14,2	48	" "	21,2
48	Kontrolle	5,0	48	Kontrolle	3,9

Aus dem angeführten Zahlenmaterial wollen wir nur hervorheben, daß auch die Zeit, die zur Produktion einer bestimmten Säuremenge durch das Langstäbchen notwendig ist, sehr von der herrschenden Temperatur beeinflußt wird. Während der Mikroorganismus in Milch bei 37° schon nach 24 Stunden so viel Säure produziert hat, daß zu deren Neutralisation 24,0 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH notwendig sind, erfordert es bei 30° 40 Stunden Zeit zur Erlangung des gleichen Säuregrades. Ganz ähnlich ist das Verhalten in Peptonschotte.

Diese kurze Charakterisierung des langstäbchenförmigen Milchsäurebakteriums aus Mazun zeigt wohl deutlich, daß dasselbe dem *Bacterium caucasicum* (Kern) L. et N. nicht nahe steht, da letzteres die Milch gar nicht koaguliert und schwach Gas bildet. Vielmehr gehört unsere Mikrobe in die Gruppe des *Bacillus casei* v. Freudenreich, unterscheidet sich aber vom Typus durch mehrere Eigenschaften wie: Bildung von flockigen Kolonien bei der Kultur in hoher Schicht, Wachstum auf Platten von Molkenagar und Peptonschottenagar etc.

#### *Bacterium Güntheri* ähnlicher Mikroorganismus aus Mazun.

Wir können uns bei der Charakterisierung dieses Organismus kurz fassen, da derselbe sich im kulturellen Verhalten auf den einzelnen Nährböden vom typischen *Bacterium Güntheri* L. et N. nur dadurch unterscheidet, daß in den Stichkulturen von gewöhnlichem Agar, Milchzuckeragar, Traubenzuckeragar und Peptonschottenagar an der Oberfläche eine starke, graue glänzende Ausbreitung wahrnehmbar ist, die bei *Bact. Güntheri* fehlt. Unmittelbar nach der Isolierung der Mikrobe aus Mazun glaubten wir noch weitere physiologische Unterschiede zwischen den beiden Mikroorganismen konstatieren zu können, allein bei fortgesetzter Reinkultur des Mazunorganismus und beim Vergleich mit verschiedenen Rassen von *Bact. Güntheri* diverser Herkunft reduzierten sich die trennenden physiologischen Merkmale auf die oben angegebenen. Morphologisch aber ist unser aus Mazun isolierter Organismus je nach Nährboden und Temperatur sehr variabel. Neben Formen, die vollständig mit dem Aussehen von *Bact. Güntheri* übereinstimmen, nämlich Kurzstäbchen von 1 bis 1,2  $\mu$  Länge und 0,5–0,7  $\mu$  Breite, meist zu zweien, an den Enden mit charakteristischer Zuspitzung, beobachteten wir auch häufig Kugelformen von 1–1,2  $\mu$  Durchmesser, einzeln oder zu zweien, öfters aber auch in Ketten bis zu 20 Gliedern, sich dabei in keiner Weise von Streptokokken unterscheidend. Längere Kugelketten konnten wir besonders in Peptonschotte wahrnehmen. Wir gedenken dem Organismus auch fernerhin unsere Aufmerksamkeit zu schenken und sind uns vorläufig nicht klar darüber, ob derselbe als *Streptococcus* oder als Kurzstäbchen anzusprechen ist. Wenn weitere Untersuchungen uns nicht eines Bessern belehren, so sind wir geneigt, in der aus Mazun isolierten als *Bact. Güntheri* ähnlicher Organismus bezeichneten Mikrobe eine spezifisch angepaßte Varietät des *Bact. Güntheri* zu erblicken.

Wir schenken der Säureproduktion durch den in Frage stehenden Organismus in Milch und Peptonschotte bei 30 und 37° während 48 Stunden nähere Aufmerksamkeit und haben in den Tabellen 6 und 7 die einschlägigen Befunde zusammengestellt.

Tabelle 6.  
Säureproduktion durch den Bact. Güntheri-ähnlichen Organismus  
in Milch bei 30 und 37°.

Zeit in Stden.	30 °	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH	Zeit in Stden.	37 °	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH
0	Kontrolle	3,0	0	Kontrolle	3,1
4	Unverändert	3,0	4	Unverändert	3,1
8	"	3,2	8	"	6,8
12	"	4,8	12	Gallertig geronnen, noch träge fließend	8,8
16	"	7,8			
20	"	8,3	16	Gallertig geronnen, fest, schwache Serumabschei- dung	11,0
24	"	9,3			
28	Gallertig geronnen, noch träge fließend	10,8	20	do.	11,4
32	do.	11,4	24	do.	12,1
36	Gallertig geronnen, fest	12,2	28	do.	12,2
40	do.	12,3	32	do.	12,3
44	do.	13,1	36	do.	12,5
48	do.	13,2	40	do.	13,8
48	Kontrolle	3,0	44	do.	13,9
			48	do.	13,9
			48	Kontrolle.	3,1

Tabelle 7.  
Säureproduktion durch den Bact. Güntheri-ähnlichen Organismus  
in Peptonschotte bei 30 und 37°.

Zeit in Stden.	30 °	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH	Zeit in Stden.	37 °	ccm $\frac{n}{10}$ NaOH
0	Kontrolle	5,0	0	Kontrolle	3,9
4	Unverändert	5,0	4	Schwache Trübung	4,0
8	"	5,0	8	Starke Trübung	6,2
12	Schwache Trübung	5,8	12	" "	8,5
16	Starke Trübung	9,0	16	" "	11,1
20	" "	9,3	20	" "	12,1
24	" "	9,7	24	" "	12,9
28	" "	11,2	28	" "	13,5
32	" "	12,2	32	" "	14,0
36	" "	12,5	36	" "	14,5
40	" "	13,4	40	" "	14,9
44	" "	13,5	44	" "	14,9
48	" "	13,6	48	" "	15,2
48	Kontrolle	5,0	48	Kontrolle	3,9

Es erübrigt uns noch zum Schlusse einige Versuche mitzuteilen, welche den Einfluß, den der Erhitzungsgrad der Milch auf die Gewinnung von Mazun ausübt, dartun sollen. In der Praxis wird die Milch aufgekocht, auf Bluttemperatur abgekühlt und dann mit etwas altem Mazun geimpft. Offenbar hat sich das Aufkochen als genügend erwiesen, um alle Bakterien abzutöten, die allenfalls die Entstehung von Mazun stören könnten. Zwar werden durch das bloße Aufkochen die vorhandenen Sporen nicht vernichtet, allein die eingesäten zahlreichen Mazunkeime vermehren sich so rasch und produzieren so reichlich Säure, daß die Sporen entweder nicht auskeimen, oder wenn sie dies noch tun, doch nicht eine die Gesamtflora wesentlich verändernde Komponente zu liefern vermögen.

Wir vermuteten, und, wie sich in der Folge erwies, richtig, daß unter

günstigen Bedingungen auch direkt aus roher Milch gutes Mazun erhalten werden könne. Es gelang uns zweimal durch Zufügen reichlicher Impfmengen (40 g Mazun auf 2 Deziliter Milch) zu keimarmer, frischer Milch ein in jeder Hinsicht erstklassiges Mazun zu erhalten. Sobald aber eine der beiden Bedingungen nämlich: Reichliches Impfmateriale und keimarme Milch fehlte, so erwies sich das erhaltene Produkt in verschiedener Weise als fehlerhaft. Geschmack und Geruch ließen zu wünschen übrig, es trat Blähung oder starke Serumausscheidung ein, das geronnene Kasein war zähe u. s. w.

Daß die Milch nicht aufgekocht zu werden braucht behufs Herstellung von Mazun, sondern daß Pasteurisieren zum Abtöten von allenfalls vorhandenen Schädlingen genügt, zeigten uns einige Versuche mit aller Deutlichkeit. 1 Minute auf 80°, 3 Minuten auf 75°, 5 Minuten auf 70° und 10 Minuten auf 65° erhitzte Milch lieferte fehlerfreies Mazun.

Sterilisierte Milch endlich gibt, wie zu erwarten ist, gutes Mazun, wobei noch der Vorteil erwähnt werden muß, daß der verpönte Kochgeschmack durch die angenehmen Geschmacks- und Geruchsstoffe des Mazun ganz oder doch wesentlich verdeckt wird.

Zum Schlusse wollen wir noch bemerken, daß wir uns künstlichen „Than“ herstellten, ein Dauerpräparat, das vorerst in sterilisierter Milch aufgeweicht, beim Weiterimpfen in aufgekochter Milch, so weit bis jetzt unsere Erfahrungen reichen, ein gutes Mazun erzeugt.

#### Zusammenfassende Schlußsätze.

Aus dem Mitgeteilten glauben wir folgende Schlüsse ziehen zu dürfen:

1) Im typischen armenischen Mazun sind drei verschiedene Arten von Mikroorganismen anzutreffen, nämlich: Hefen, langstäbchenförmige Milchsäurebakterien und *Bact. Güntheri* L. et N. ähnliche Organismen.

2) Die isolierte Hefespecies vergärt in Reinkultur den dargebotenen Milchzucker unter Bildung von Säure, Alkohol und aromatischen Stoffen, welche wahrscheinlich den Fettsäureestern nahestehen. Die Milchsäurebakterien aber produzieren aus dem Milchzucker reichlich Säure, welche besonders durch die Tätigkeit der Langstäbchen in der dickgelegten Milch bei 30° bald so stark zunimmt, daß das Produkt nicht mehr genossen werden kann.

3) Beteiligt sich einer der drei Organismen nicht an der Entstehung des Mazun, so ist dasselbe zufolge Fehlens der spezifischen Tätigkeit des nicht Vorhandenen mit bestimmten Fehlern behaftet. Die am wenigsten einschneidende Veränderung des Produktes wird durch Weglassung des Kurzstäbchens hervorgerufen.

4) In biologischer Beziehung ist das Mazun mit Kefir, Sauerteig, Käsereisauer etc. in eine Reihe zu stellen, denn auch hier haben wir es mit einer Vergesellschaftung von Hefe mit kräftigen Milchsäurebildnern zu tun. Wenn auch unter dem gemeinschaftlichen Einfluß der genannten Organismen auf das Substrat vielleicht Produkte entstehen, die jeder einzelne nicht zu erzeugen

vermöchte, so dürfte doch, speziell beim Mazun, diese Erscheinung nicht als Symbiose gedeutet werden. Bei der Mazunbereitung ruft jeder der drei als notwendig erkannten Organismen der Hauptsache nach offenbar diejenigen Umsetzungen hervor, durch welche seine Tätigkeit bei Einzelverimpfung auf Milch charakterisiert ist.

5) Die schon nach kurzer Tätigkeit der langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien zu beobachtende Säurezunahme schützt das entstehende Mazun vor allenfalls eintretender Luftinfektion und vor der Entwicklung der widerstandsfähigen Bakterienarten, die beim Aufkochen der Milch nicht abgetötet wurden und sonst leicht störend wirken könnten.

Zürich, im Oktober 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Ein bemerkenswerter Fall von nachträglicher Käseblähung.

[Mitteilung aus dem bakteriologischen Laboratorium der Molkereischule Rütli-Bern.]

Von A. Peter und M. Schneebeili<sup>1)</sup>.

Mit 2 Tafeln.

Die milchwirtschaftliche Bakteriologie hält bekanntlich die Blähung des Käses auf der Presse und die erst nach einigen Tagen oder Wochen eintretende Blähung auseinander. Erstere wird als Vergärung des Milchzuckers durch Bakterien aus der Gruppe des *Bact. coli commune* und *Bact. lactis aërogenes* aufgefaßt. Die letztere soll nicht durch die gleichen Bakterienarten ausgelöst werden können, da der Milchzucker schon einige Tage nach der Herstellung des Käses nicht mehr aufzuweisen ist. Es ist bezüglich dieser Auffassung auf eine ganze Reihe bekannter Arbeiten von Adametz, v. Freudenreich, Jensen u. a. zu verweisen.

Der Techniker hat sich aber von jeher mit dieser Auffassung nur ungern abgefunden, da zwischen beiden Arten von geblähten Käsen doch manche Berührungspunkte und Uebergänge vorhanden sind. Die Käse können auf der Presse nach 3 Stunden oder auch erst nach 24 Stunden gebläht werden; von der Fabrikation an kann überhaupt die Blähung bis zum Alter von 4—6 Wochen sozusagen jeden Augenblick beginnen. Es ist also schon bezüglich des Zeitpunktes manchmal schwierig, zu sagen, wo der Preßler aufhört und wo die nachträgliche Blähung beginnt. Man ist geneigt, die Größe der Augen als Kriterium zu betrachten. Preßler haben kleine Augen, nachträglich geblähte Käse große. Richtig ist, daß im allgemeinen die Augen um so größer werden, je später die Blähung eintritt, jedoch können im gleichen Käse kleine und große Löcher nebeneinander vorkommen. Fig. 1 zeigt einen Käse, der in der Nähe der Rinde Preßleraugen und im Zentrum die Lochung eines

1) An der vorliegenden Arbeit hat auch Herr Prof. Dr. Burri vom landwirtschaftlichen bakteriologischen Laboratorium am Polytechnikum Zürich wesentlichen Anteil, indem er in dankenswerter Weise die Identifizierung des Schädling nachprüfte und uns bezügliche Ratschläge erteilte.

nachträglich geblähten Käses besitzt. Wenn auch die Bakteriologie bisher eine befriedigende Erklärung über derartige Vorkommnisse und speziell über die Ursachen der nachträglichen Blähung nicht gegeben hat, so darf doch eine gewisse Wechselbeziehung zwischen Preßler- und nachträglich geblähten Käsen angenommen werden.

Der Zufall hat uns nun einen sehr interessanten Fall von Betriebsstörung in einer Emmentalerkäserei in die Hände gespielt, der geeignet erscheint, zu dieser Frage einen wichtigen Beitrag zu liefern.

### **Der praktische Befund.**

Die Käse vom Monat Juni begannen nach 10—14 Tagen heftig zu blähen. Die Blähung trat bei 24 nacheinander fabrizierten, ca. 100 kg schweren Laiben ein. Im Stadium der Blähung wurden die Käse fast kugelig-rund und zersprengt, nachher fielen sie wieder ein, um annähernd die ursprüngliche Form anzunehmen. Die Fig. 4 zeigt solche Käse in allen Stadien. Der Teig hatte die typischen Eigenschaften eines nachträglich geblähten Käses; die Konsistenz war mehr mit einem zähen Brotteig als mit einem Käseteig zu vergleichen, deshalb auch das Einfallen der Käse, nachdem die Gasproduktion aufgehört hatte. Die Blähungszone war von hochgelber Farbe, so daß sie auf der Photographie bedeutend dunkler erscheint als die Randpartieen. Fig. 2 zeigt ein Stück eines solchen Käses.

Während der Fabrikation will der Käser nichts Auffallendes bemerkt haben, die Bruchkörner seien indessen mehr seifig anzufühlen gewesen und hätten die Feuchtigkeit nur unvollständig abgegeben. Es ist dies eine Erscheinung, die man häufig auch bei Preßlerkäse, mehr aber noch beim Auftreten nachträglich geblähter Käse konstatieren kann.

### **Die Isolierung des Blähungserregers.**

Die Versuche, aus den in beschriebener Weise fehlerhaften Käsen einen Schädling mit charakteristischen Eigenschaften zu isolieren, waren von Erfolg begleitet. Aus einem 24 Tage alten, stark zerrissenen Laib wurde mit Hilfe des Käsebohrers eine Probe gezogen und ein Stück davon in sterilisiertem Mörser mit sterilisiertem Wasser zerrieben. Angemessene Verdünnungen der Aufschwemmung ergaben bei Verarbeitung auf Molkengelatine-Plattenkulturen wie auf Peptonschottenagar-hoher Schicht eine annähernde Reinkultur eines kräftig gasbildenden Bakteriums, dessen genauere Beschreibung folgt.

### **Beschreibung des isolierten Gasbildners.**

#### **A. Makroskopischer Befund.**

1) Peptonschottenagarplatten. Nach 2 Tagen bei 36° C auf günstig besetzter Platte Kolonien von 2—3 mm Durchmesser. Diese sind rundlich, glattrandig, schmutzig-gelb mit starkem Glanze und bläulich durchscheinendem Rande. Aus der Masse lassen sich mit Leichtigkeit bis 10 cm lange Faden ziehen. Die Tiefenkolonien messen höchstens  $\frac{1}{2}$  mm Durchmesser, sind meist rundlich, oft auch linsenförmig. Häufig hat sich darüber eine Gasblase gebildet von 5—8 mm Durchmesser.

2) Molkengelatineplatten. Nach 3 Tagen bei 20° C haben die Oberflächenkolonien selten mehr als 2 mm Durchmesser; sie sind

milchig-weiß, stark glänzend, glattrandig, Ränder bläulich durchschimmernd. Bei diesen Kulturen konnte man mit Leichtigkeit Faden von bis 30 cm Länge ziehen. Die Kolonie läßt sich als Ganzes in einem Faden von der Platte abheben, ähnlich wie beim *Micrococcus Freudenreichii*.

Die Tiefenkolonien zeigen höchstens 0,5 mm Durchmesser, sind glattrandig, grau durchschimmernd und bilden kein Gas.

3) Peptonagar-„hohe Schicht“. Schon nach 16 Stunden bei 36° C war der Nährboden stark getrübt, total zerrissen und mit vielen Gasblasen durchsetzt. Das Kondenswasser zeigte sich stark fadenziehend. Die Kolonien sind ziemlich klein, höchstens  $\frac{1}{8}$  mm Durchmesser; alle gleichmäßig. Die zweite Verdünnung ist noch nicht zerrissen, jedoch mit vielen Gasblasen durchsetzt. Das Kondenswasser ist ebenfalls schön fadenziehend. Die Kolonien sind  $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{2}$  mm groß bei einer Gesamtzahl von 128 per Röhre. Von 20 auf Fadenziehen geprüften Kolonien zeigten alle deutlich diese Eigenschaft. Mit diesen schleimigen Kolonien wurden in analoger Weise wie mit denjenigen der Plattenkulturen die übrigen Nährboden geimpft und dabei durchweg übereinstimmende Resultate erhalten.

4) Peptonschottenagarstrich. Nach 24 Stunden bei 36° C Wachstum eines milchig-weißen Belages mit starkem Glanze mit ca. 1 mm Ausdehnung zu beiden Seiten des Striches. Dieser Belag ist stark fadenziehend, wie auch das milchig getrühte Kondenswasser. Nach 3 Tagen wird der Nährboden unter dem Strich stark getrübt. Später treten im Kondenswasser mehrere Blasen auf.

5) Peptonschottenagarstich. Nach 24 Stunden bei 36° C tritt stets starke Gasbildung auf. Im Kanal kräftiges Wachstum bis an den Boden des Reagenzglases. Nach 2 Tagen treten im ganzen Nährboden Blasen auf. Am oberen Ende des Stichkanals setzt sich häufig eine Gasblase fest, die von einer milchig-weißen, stark glänzenden Masse mit stark fadenziehender Eigenschaft überzogen wird.

6) Molkengelatinestich. Nach 2 Tagen bei 20° C entwickelt sich starkes Wachstum bis unten. Der Stich ist stets knötchentragend. Im oberen Teile des Nährbodens treten oft Gasblasen auf. An der Oberfläche findet sich kräftiges Wachstum einer weißen, gewölbten, stark glänzenden, intensiv fadenziehenden Masse vor.

Am oberen Ende des Stichkanals findet sich immer eine Gasblase vor.

7) Kartoffelkultur. Nach 16 Stunden bei 36° C ist eine weiße bis schwach gelbliche Masse gewachsen, die etwas zähe Faden ziehen läßt. Etwas später breitet sich diese aus und wird von einigen Gasblasen durchsetzt.

Bei 20° C bleibt das Wachstum bedeutend zurück und es bildet sich kein Gas.

8) Zuckerbouillon. Dieser Nährboden wird schon nach einigen Stunden stark getrübt und deutlich fadenziehend.

9) Gärkölbchen. Die Gasanalyse ergab, daß in einem Falle 60 Proz., im anderen 64 Proz. vom Gesamtgas absorbierbar war. Der größere Teil des gebildeten Gases besteht also aus CO<sub>2</sub>.

10) Sterilisierte Milchkulturen. Nach 16 Stunden bei 36° C zeigte sich ein wenig kompaktes Koagulum mit milchiger Serumabscheidung. Im Rahm sind viele Blasen vorhanden. Das Serum ist wenig fadenziehend, während der Rahm die Eigenschaft sehr stark besitzt.

Die Kulturen, die bei 20° C gestanden haben, sind nach 40 Stunden



noch nicht geronnen, zeigen Blasen im Rahm und sind deutlich fadenziehend.

11) Rohe Milchkulturen. Diese gerinnen schon nach  $3\frac{1}{2}$  Stunden bei  $20^{\circ}\text{C}$  gallertartig mit Abscheidung von milchigem Serum, das intensiv fadenziehend ist. Nach 16 Stunden zieht sich das Käschen stark zusammen und hebt sich etwas von der weißlichen Flüssigkeit ab. Sie zeigt nach 28 Stunden  $33^{\circ}$  Säure (nach Soxhlet-H.).

Die Kultur, die bei  $36^{\circ}\text{C}$  gestanden hat, gerinnt nach  $3\frac{1}{2}$  Stunden käsigt. Das Serum ist stark fadenziehend. Später zieht sich das Käschen ebenfalls zusammen, während die fadenziehende Eigenschaft etwas zurücktritt, aber nach 24 Stunden noch deutlich vorhanden ist. Der Säuregrad beträgt nach 28 Stunden 35. Sämtliche Kontrollmilchen sind normal und nicht fadenziehend geworden.

### B. Mikroskopischer Befund.

1) Aus 1 Tag alten Agarplattenkolonien: Unbewegliche Stäbchen mit abgerundeten Enden und wechselnder Länge. Dimensionen  $1-4\ \mu \times \frac{1}{4}-1\ \mu$ , meist  $2 \times 1\ \mu$ . Plasma oft deutlich körnig.

2) Aus 2 Tage alten Gelatineplattenkolonien: Oberflächenkolonien enthalten relativ gleichmäßige, im Mittel  $2\ \mu$  lange Stäbchen von ca.  $1\ \mu$  Breite. Bei den Tiefenkolonien sind die Schwankungen in den Dimensionen größer. Neben normalen Formen von  $2-3 \times 1-\frac{5}{4}\ \mu$  finden sich ganz kleine Individuen von höchstens  $1 \times \frac{3}{4}\ \mu$ .

3) Aus 2 Tage altem Molkengelatinestich: Durch Schleimzwischenschichtung bedingte Abstände zwischen den einzelnen Stäbchen sehr ausgeprägt. Form gleichartig, meist etwas aufgedunsene, plumpe Kurzstäbchen von ca.  $2\ \mu$  Länge und  $1-1,5\ \mu$  Breite.

Alle Messungen sind an lebenden Präparate im hängenden Tropfen mit Meßokular und Zeisschem Apochromat 2 mm ausgeführt.

### Identifizierung.

Ein Blick auf das soeben geschilderte kulturelle und morphologische Verhalten weist uns ohne weiteres auf die *Aërogenes*-Gruppe. Dieses Ergebnis ist um so weniger überraschend, als die bisher untersuchten Fälle heftigster Käseblähung (Preßler) fast ausnahmslos dem *Bact. aërogenes* oder auch dem *Bact. coli* nahestehende Bakterien als Ursache der Betriebsstörung haben erkennen lassen. Während aber in diesen letzten Fällen die heftige Gasbildung in der Regel sehr frühzeitig, meist schon unter der Presse einsetzte, geschah dies im vorliegenden Fall, nachdem der Käse schon eine Reihe von Tagen im kühlen Keller gelagert hatte, also zu einer Zeit, in welcher bei Preßlerbildung die ursprünglich massenhaft vorhandenen Blähungspilze schon nicht mehr nachgewiesen werden können. Welche besonderen Umstände hier zu einer so verspäteten reichlichen Gasbildung geführt haben, und ob der zeitliche Ablauf des Prozesses mit der besonderen Natur des in Betracht kommenden *Aërogenes*-Stammes zusammenhängt, läßt sich kaum entscheiden. Jedenfalls ist als bemerkenswert hervorzuheben, daß unser Blähungserreger nicht ein typisches *Bact. aërogenes* ist, sondern sich von einem solchen unterscheidet, einerseits durch die ausgesprochen fadenziehende Beschaffenheit der Kulturen auf zuckerhaltigen Nährböden, andererseits durch die auffallend geringe Neigung, bei oberflächlichem Wachstum auf festen Nährböden ausgebreitete Beläge

zu bilden. Beide Unterschiede sind hingegen nicht durchgreifender Art, sondern es handelt sich nur um Merkmale, die auch bei normalen Aërogenes-Stämmen mehr oder weniger zum Ausdruck kommen, die aber beim vorliegenden Stamm ins Extreme entwickelt erscheinen.

Auf welche Art und Weise diese Varietät des Bact. aërogenes in den Käse kam, kann nicht mehr festgestellt werden. Es wurde in der kritischen Zeit von einem größeren Viehbesitzer ein aus Schwefelblumen, Enzian und verschiedenen anderen officinellen Pflanzen, zusammengesetztes Viehpulver gegen den ansteckenden Scheidekatarrh der Kühe (Knötchenseuche) gebraucht, und der Käser ist der Meinung, das sei die direkte Ursache der Betriebsstörung gewesen. Man bezeichnet bekanntlich aus alter Erfahrung die Milch von medizinierten Kühen als käsereiuntauglich, obgleich die Wissenschaft auch hier noch keine bestimmte Erklärung geliefert hat. In diesem Falle kann aber natürlich ebenso gut eine gelegentliche Einschleppung des Pilzes durch irgend eine Lieferantenmilch oder durch die Labmagen stattgefunden haben. Der Pilz ist dann jedenfalls in Lab und Sauer weitergezüchtet worden, weshalb in der kritischen Zeit alle Käse nacheinander blähten. Zudem wurde in der fraglichen Käserei in zwei verschiedenen Kesseln gekäst, die nicht immer die Milch der gleichen Lieferanten enthielten. Die Störung verschwand nicht plötzlich, sondern flaute langsam ab, wahrscheinlich in dem Maße, als die Virulenz der Pilze nachließ oder sie durch normal arbeitende Arten aus dem Betriebe wieder verdrängt wurden.

### Versuche mit Reinkulturen.

Den Beweis, daß der Pilz wirklich nachträglich geblähte Käse erzeugen könne, mußten wir durch einen praktischen Versuch erbringen. Zu diesem Zwecke wurden ca. 150 l frische Käsereimilch mit der Reinkultur des Blähungserregers zu einem Käse verarbeitet.

Sterilisierte Molke wurde mit einer jungen, kräftigen Reinkultur geimpft und bei 30° C 18 Stunden bebrütet. Die Kultur war nach dieser Zeit getrübt und deutlich fadenziehend. Diese Kultur wurde im Verhältnis von ca. 1:50 einem größeren Quantum sterilisierter Molke beigesetzt und diese wieder 24 Stunden bei 30° C gehalten. Sie war indessen noch nicht oder nicht mehr fadenziehend, diente aber gleichwohl zur Herstellung des Versuchskäses. Die Milch wurde mit 200 ccm Reinkultur versetzt und dieselbe 15 Minuten zum Anwachsen stehen gelassen. Nun erfolgte die Labung mit einem guten Labpulver, das wir mit Erfolg im täglichen Betriebe der Käserei verwenden. Das Fabrikationsverfahren war im übrigen das gleiche, wie bei einem großen Käse, nur durfte das Nachwärmen entsprechend der Beschaffenheit des Bruches nur bis 51° C erfolgen. Der Käse wurde gepreßt, nach 2 Stunden hatte die ablaufende Molke 14 Säuregrade und nach 4 Stunden 14,3, zeigte also fast keine weitere Zunahme mehr. Nach 9 Stunden war das Käschen trocken und von normalem Aussehen, immerhin etwas schwammig im Griff. Nach 36 Stunden begann die Blähung und war im Alter von 3 Tagen ziemlich im Stadium. Der Käse wurde in diesem Zeitpunkt angebohrt und hatte einen vollständig zusammengewachsenen, zähen Teig mit zahlreichen Löchern von der Größe einer wilden Kirsche. Ein Stück des Bohrlings wurde nun auf analoge Art verarbeitet wie der Originalbohrling. Es gelang hier, auf Platten und aus hoher Schicht ein Bakterium zu isolieren, das mit dem beschriebenen





**Fig. 4.**

Verlag von **Gustav Fischer in Jena.**



A. Peter und M. Schneebeli, Käseblähung.

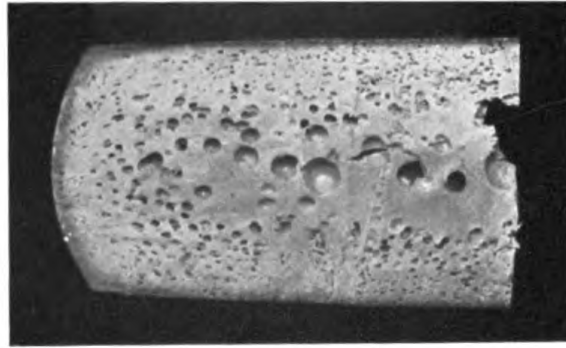


Fig. 1.

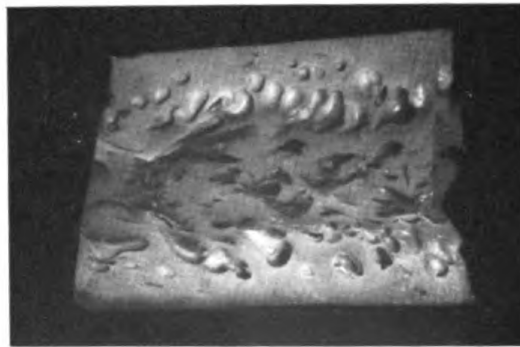


Fig. 2.

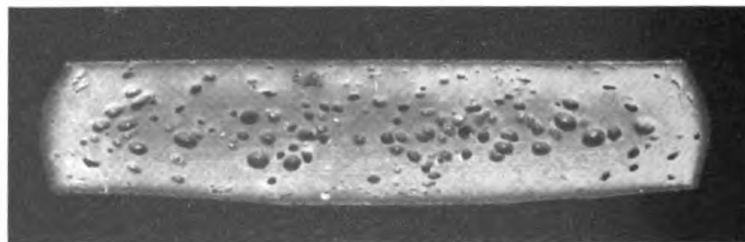


Fig. 3.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Schädling als identisch erklärt werden mußte. Allerdings trat die fadenziehende Eigenschaft der Kolonien schwächer hervor, wogegen das Gasbildungsvermögen eher intensiver war.

Als nach 5 Wochen keine stärkere Blähung mehr auftrat, wurde der Käse verschnitten und photographiert. Das Bild (Fig. 3) zeigt nun in der Tat eine für die Größe des Käses genügend charakteristische, nachträgliche Blähung, auch ist der Teig in der Blähungszone etwas gelber (auf der Photographie dunkler) und von ähnlicher Konsistenz wie beim Originalkäse.

Die Erscheinung der Blähung und die Veränderung des Teiges war indessen nicht so auffallend wie beim Originalkäse, was vielleicht zum Teil aus dem Unterschied in der Größe der Käse (der eine 100 kg, der Reinkulturkäse dagegen nur 14 kg) sich erklärt und vielleicht auch auf eine Abschwächung der Virulenz durch die künstliche Kultivierung der Bakterien zurückzuführen ist.

Ferner kann man sich fragen, ob der Versuchskäse mehr als Preßler oder als nachträglich geblähter Käse zu bezeichnen sei. Der Zeitpunkt der Blähung spricht mehr für Preßler, die Art der Lochung dagegen für eine leichte, nachträgliche Blähung. Da jedoch der Schädling aus dem Versuchskäse wieder erhalten wurde, scheint der Versuch immerhin beachtenswert.

### Zusammenfassung.

1) Es wurde in einem 3 Wochen alten, nachträglich geblähten Käse eine stark gasbildende, fadenziehende Varietät des *Bacterium lactis aërogenes* gefunden.

2) Da 24 nacheinander fabrizierte Käse gleich stark gebläht waren und der Pilz sich in dem untersuchten Käse fast in Reinkultur vorfand, muß er als der wahrscheinliche Erreger der Betriebsstörung bezeichnet werden.

3) Diese Ansicht wird gestützt durch die Herstellung eines Versuchskäses mit der Reinkultur des Pilzes, wobei eine zwar weniger heftige, aber doch ähnliche, nachträgliche Blähung des Käses stattfand.

### Tafelerklärung.

Fig. 1. Schnitt durch einen doppelt geblähten Käse. In der Nähe der Rinde die Lochung von auf der Presse geblähten Käsen und im Zentrum die Lochung nachträglich geblähter Käse nebeneinander. Dieser Käse stammt nicht aus der fraglichen Käserei, das Bild dient nur als Beleg für die Ansicht, daß die beiden Erscheinungen ursächlich miteinander Beziehungen haben.

Fig. 2. Ein Stück Käse, sehr stark gebläht und wieder eingefallen. Die im Zentrum gelegene Blähungszone war in natura hochgelb von Farbe und ist auf dem Bild infolgedessen wesentlich dunkler ausgefallen.

Fig. 3. Schnitt durch den mit der Reinkultur des Blähungserregers hergestellten Versuchskäse im Alter von 5 Wochen.

Fig. 1, 2 und 3 =  $\frac{1}{6}$  natürlicher Größe.

Fig. 4. Bild aus dem Käselager der Käserei U., 13 Stück der geblähten Käse in verschiedenen Stadien zeigend, teilweise hoch und teilweise zersprengt und eingefallen.

## Zur Lebensweise der Milben der Familie der Tyroglyphinae in Futter- und Nahrungsmitteln.

Von Dr. A. Maurizio,

I. Assistenten d. agrik.-chem. Anstalt u. Privatdozenten am Polytechnikum in Zürich.

Zur Gruppe der Milben (Acaroidea), den milbenartigen Spinnen, gehören Tiere, die unter den verschiedensten Lebensbedingungen ihr Fortkommen finden und nicht nur im ausgewachsenen Zustande, sondern auch in einigen ihrer Verwandlungsstadien den wechselnden Anforderungen der Umgebung gerecht werden. Im Süß- und Seewasser sowohl als auf dem Lande lebend, ernähren sich die Milben in beiden Medien parasitisch oder von in Zersetzung begriffenen organischen Substanzen; sie sind an niederen und höheren Wasser- und Landtieren und vom Düngerhaufen bis zu landwirtschaftlichen Vorräten, sowie gewerblichen Stoffen aller Art zu treffen. Demzufolge ist ihre Organisation sehr mannigfaltig. Eine kurze, fesselnd geschriebene Uebersicht derselben gab Giov. Canestrini<sup>1)</sup>. Die eine Ordnung der Astigmata, d. h. Milben, welche durch die Haut atmen und keine besonderen Atmungsorgane besitzen, umschließt nach diesem Forscher, wenn wir von der Flugfähigkeit absehen, nahezu die ganze Skala der möglichen Organisationsverhältnisse des Tierreiches. Dieser Ordnung gehört auch die Familie der Tyroglyphinae an, deren Vertreter Saprophyten sind, im übrigen aber ein bisher nicht genügend aufgeklärtes Dasein in Gebäuden, lagernden Vorratsstoffen fristen. Die Tyroglyphinae, mit denen die vorliegenden Zeilen sich allein beschäftigen, bestehen nach Canestrini<sup>2)</sup> aus 12, nach anderer Auffassung aus 15 Gattungen mit ungefähr 30 Arten. Einer systematischen und morphologischen Erörterung darf um so eher aus dem Wege gegangen werden, als in letzter Zeit zwei leicht zugängliche wissenschaftliche kurze Darstellungen erschienen, welche nicht allein die Systematik der Tyroglyphinae, sondern auch deren Lebensweise und viele durch diese Tierchen veranlaßte Vorkommnisse des täglichen Lebens behandeln. Die eine stammt von dem bekannten Milbenforscher Trouessart<sup>3)</sup>, die andere von Ludwig-Greiz<sup>4)</sup>, dem das Verdienst gebührt, weitere Kreise zur Beobachtung der Milben angeregt zu haben.

Wo hier von Milben schlechterdings die Rede ist, sind die Tyroglyphinae gemeint. Seit uralten Zeiten werden die Milben die Vorräte des Menschen heimgesucht haben. Vor Nahrungsmangel schützt sie einesteils die Vorliebe der erwachsenen Tiere, zu wandern, anderenteils der Umstand, daß manche ihrer Gattungen eine besondere Form des Larvenstadiums besitzt (Wanderlarve, Hypopus-Larve), die dem Zwecke dient, durch Tiere verbreitet zu werden. Während das erwachsene Tier, das die den Tyroglyphinae eigentümliche Metamorphose

1) Canestrini, G., L'adattamento degli Acaroidei alle condizioni di vita. (Atti Accad. degli Agiati di Rovereto. Ser. IV. Vol. II. 1896. Fasc. 1. p. 17.)

2) Canestrini, G., Prospetto del sistema acarologico (Acaroidea). (Atti R. Ist. Veneto. 1891 und Famiglia dei Tyroglifidi. Ser. VI. Vol. VI. 1887—1888. p. 1187. Mit zahlr. Taf.) Vergl. Kramer und Canestrini, Demodicidae und Sarcoptidae. (Tierreich. Heft 7.) Berlin (Friedländer) 1899.

3) Trouessart, E. L., Parasites des habitations humaines et des denrées aliment. et commerciales. Paris 1895?

4) Ludwig, Fr., Milbenplage der Wohnungen etc. Leipzig 1904.



durchgemacht hat, keine Organe zum Festhalten und Anklammern aufweist, hat die Larve zwar meist schlecht ausgebildete Freßwerkzeuge (Mandibeln), ist aber mit besonderen Organen, Greifzangen und -platten, Haftnäpfen, umgewandelten Beinen etc., ausgestattet, die als Reise- resp. Reitausrüstung anzusehen sind. Diejenigen, denen die Anlage zukam, sich in der Nähe des Menschengeschlechts niederzulassen, konnten dies ungehindert seit unvordenklichen Zeiten tun. Vielleicht stellen solche Milben eigentliche Kulturrassen dar, die in der freien Natur nicht anzutreffen sind. Die häufig aufgeworfene Frage nach dem ursprünglichen Standorte ist deshalb nicht von großem Interesse. Es ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß Einwanderung noch jetzt stattfinden kann, wie die von Lindner<sup>1)</sup> erwähnte Hopfenmilbe als naheliegend erscheinen läßt. Die betreffende Untersuchung wurde von Wichmann in der Wiener Station für Brauerei ausgeführt. Die Hopfenmilbe gehört der Gattung *Glycyphagus* an und verbreitete sich vom Hopfen aus derartig stark auf der Tenne im Malz, daß von diesem nur 1—2 Proz. intakte Körner zurückblieben, alle übrigen ausgefressen waren.

Ogleich das massenhafte Auftreten von Milben im menschlichen Haushalte jedenfalls von jeher Unzukömmlichkeiten nach sich zog, datieren doch die ersten Angaben darüber erst vom Jahre 1880<sup>2)</sup>. Trouessart und Ludwig l. c. beschrieben später zahlreiche Fälle von Invasionen. Der letztere bemerkt am Schlusse seiner Beschreibung: daß die Milben der Tyroglyphenfamilie, die auch in dem reinlichsten Haushalte auftreten können, durch ihre Massenverbreitung, die die alles anderen Hausungeziefer weit übersteigt, im stande sind, das häusliche Glück zu untergraben und das Heim zu einer wahren Hölle zu gestalten ..... Die Beispiele, welche diese Forscher anführen, geben in der Tat ein erschreckendes Bild von den durch Milben angerichteten pekuniären und gesundheitlichen Schäden.

Die beiden zuletzt genannten Verfasser beschäftigen sich vorzugsweise mit dem Auftreten der Schädlinge in Wohnungen. Durch Erkundigungen, die ich einzog, wurden mir von durchaus glaubwürdiger Seite diese Schilderungen an neuen Fällen bestätigt. Einmal handelte es sich um eine Wohnung, in deren Nähe auf dem Hofe Schweineställe nebst kleinen Kleielagern standen, ein anderes Mal um eine solche, die über einer Bäckerei lag. Die Milben gelangten aus Kleie resp. aus Mehl in die Wohnungen. In den Häusern selbst leben sie vom Kleister der Tapeten, vom Roßhaar und Seegras und allen Kücheabfällen, deren sie habhaft werden können. Im ganzen sind jedoch Invasionen von Wohnräumen seltene Vorfälle, die eigentliche Behausung der Milben bleiben stets die Lager der landwirtschaftlichen Vorräte. Fast alle Kalamitäten, die Ludwig so anschaulich schildert, könnten dies erhärten, wenn sie gründlicher erforscht worden wären.

In einem vorzüglichen Buche sagt ein alter Praktiker<sup>3)</sup> daß die Tiere sich an etwas feuchtem, nicht genügend gelüftetem Mehl, an Kleie und an anderen mehlhaltigen Stoffen einstellen, namentlich wenn diese

1) Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 2. Aufl. Berlin 1898. p. 52.

2) Science Gossip. 1880, zitiert nach A. D. Michael, Tyroglyphidae. (Ray Soc. Vol. I. London 1901.)

3) Getreide- und Hülsenfrüchte mit besonderer Berücksichtigung ihrer Bedeutung für die Heeresverwaltung etc. Berlin 1895. Bd. II. p. 411. Der Verf. ist Proviantamtsdirektor Eisermann.

erhitzt. Im übrigen sei kein Futter- oder Nahrungsmittel verschont, die Gemüsekonserven nicht ausgenommen. Weniger Beachtung fand die Schädigung ganzer Körner. Außer Malz werden die Cerealien und Leguminosen, auch Vorräte der Samenhandlungen angegriffen. Nach Mitteilungen der Stadtmühle Zürich wurde vor einigen Jahren rumänischer und russischer Weizen in die Schweiz eingeführt, der wegen Transportschwierigkeiten unterwegs längere Zeit in Säcken lagerte. Die Säcke boten nach der Ankunft einen traurigen Anblick dar, denn durch die Tätigkeit der Milben gingen sie auf die Hälfte ihres Volumens ein, die Körner waren fast unbrauchbar. Im Kornhause der Stadt Zürich lagerten vor 2 Jahren mehrere Tonnen Weizen in Säcken. Wegen Ueberfüllung des Kornhauses mußten sie statt, wie gebräuchlich, mit der schmalen Seite nach oben, was eine gründliche Lüftung ermöglicht, in der Weise gelagert werden, daß die Längsseite nach oben zu stehen kam. Um den Platz noch besser auszunutzen, wurden die Säcke auch in mehr Reihen aufeinandergeschichtet, als es bei der zuerst genannten Lagerung üblich ist. Diese Gewohnheit ist beachtenswert, da sie mit der Empfehlung Eisermanns übereinstimmt, bei sackweiser Lagerung die Säcke häufig zu sonnen und zu lüften; dies sei für sich allein im stande, die Milben zu vertreiben. Die erwähnten Körner beherbergten Milben, die an der Bildung kleiner Mehlhäufchen an der Außenseite der Säcke erkennbar waren; sie fielen durch die Sackleinwand zu Millionen heraus. Es war dies im Juli—August und die Tiere fanden sich so zahlreich ein, daß die Bodenrinnen, welche die einzelnen Abteilungen des Kornhauses voneinander trennen, von ihnen ganz gefüllt waren. Die Menge des lebenden Pulvers war schließlich so groß, daß es mit Schaufeln entfernt werden mußte. Sofortiges Wegschaffen des Weizens, Reinigung und Verarbeitung verhinderten die Ansteckung der übrigen Vorräte. Leider wurde ich erst nach der Ausräumung von dem Vorfalle benachrichtigt. Es sei der Vollständigkeit halber beigelegt, daß, wie in Silos mit ihrer kräftigen Lüftung der Kornwurm (*Silvanus frumentarius*) und andere Insekten nicht vorkommen, die Silolagerung auch die Milbenvermehrung wohl verhindern dürfte.

Zahlreiche Futtermittel wurden auf Milbengegenwart untersucht. In allen untersuchten Materialien fanden sie sich vor, Heuabfälle, Melassefuttermittel und trockene Treber nicht ausgenommen. Besonders reich waren die Cerealien und ihre verschiedenen Produkte. Von 83 Proben solcher waren 19 oder 22,8 Proz. verseucht, in 11 oder 13,3 Proz. Milben massenhaft vorhanden. In ganzen Körnern und Schrotten sind sie überaus häufig, in Kleien in 50 Proz. der Fälle. Merkwürdigerweise sind sie aber öfters in sonst stark verunreinigten Produkten, wie Mühlstaub und Kleie schlechter Qualität, gar nicht nachzuweisen. Wenn auch die Ansicht, der ich früher zuneigte<sup>1)</sup>, daß kleinere Mühlen mit wenig vollkommenen Einrichtungen, besonders auf dem Lande, mehr Milben beherbergen als moderne Betriebe, nicht allgemein zutrifft, so sind doch die Produkte der letzteren in den meisten Fällen milbenfrei. Dutzende, jahrelang in Gläsern gehaltene Halbprodukte und Mehle einiger Großmühlen wiesen keine Milben auf. Es waren in ihnen weit eher Insekten und Puppenspinne wahrzunehmen. Daraus scheint hervorzugehen, daß die Mehlprodukte, welche nicht direkt, sondern von Zwischenhändlern und Landwirten bezogen wurden, während der späteren

1) Landw. Versuchsstat. Bd. LVII. p. 415.

ungünstigen Lagerung angesteckt wurden. Die Seltenheit der Milben in Futterkuchen, mögen sie aus der Fabrik oder aus zweiter Hand bezogen sein, ist sicher dem geringen Wassergehalte dieser Stoffe zuzuschreiben. In Hunderten von Erdnußkuchenhöhlen fanden sich Milben nur 4mal vor, in zahlreichen Reissfüttermehlen nur in einem Falle vor, etwas häufiger in Sesamkuchen und selten in Raps- und Leinkuchen.

Man hat demnach alle Veranlassung, die näheren Bedingungen der Vorliebe der Milben für manche Nahrungs- und Futtermittel und die des Fehlens in anderen zu erforschen. Es fragte sich, welches Minimum des Wassergehaltes, welche Temperatur und sonstige Umstände eine Verzögerung ihrer Vermehrung bewirken, welche Wege einzuschlagen sind, um Milbeninvasionen zu verhindern und, wo schon Milben vorhanden, sie zu vernichten. Es blieben auch einige Fragen zu erörtern, die mit der Lebensweise der Tyroglyphinae zusammenhängen, nicht zuletzt die Fälle von Krankheitsercheinungen, die sie hervorrufen. Demzufolge wurden die Milben nicht vom Standpunkte des Systematikers, sondern in Kulturen unter verschiedenen Bedingungen längere Zeit beobachtet. Diesen Zwecken dienten aus Futtermitteln isolierte, in geeigneten Substanzen zu kräftiger Vermehrung gebrachte Milben. Die drei kultivierten Arten kamen wiederholt in Futtermitteln vor; sie gehören zu den häufigsten Vertretern dieser Schädlinge. Herr Prof. Ant. Berlese in Florenz hatte die Freundlichkeit, sie zu bestimmen.

1) *Tyroglyphus farinae* de Geer. Ins. VII. T. 5. p. 97. Fig. 15 (*Acarus farinae*)<sup>1</sup>). Canestrini<sup>2</sup>) sagt von dieser Species: Die Wandernymphen sind *Hypopus*-artig. Das Tier lebt immer in großen Mengen in altem verdorbenen Mehl, im Reis, Heu, in Kartoffeln, im Stroh und im Käse. Die *Hypopus*-Form findet sich auf Mäusen und anderen Haustieren. Das Weibchen ist sehr fruchtbar und enthält häufig mehrere Eier. Obgleich diese Art sich auch häufig im Käse vorfindet, so ist sie nicht diejenige, welche mit dem Vulgärnamen „Käsemilbe“ bezeichnet wird; diese ist *Tyroglyphus siro*. Die vorliegende Species muß nach dem von ihr bevorzugten Wohnorte Mehlmilbe genannt werden. Von mir wurde die Milbe in verschiedenen Mehlen gefunden.

2) *Glycyphagus spinipes* K. (*Acarus spinipes* L. C. Koch C. M. A. Deutschlands. Fasc. 33. Fig. 1)<sup>3</sup>) ist eine lebhaft sich bewegende, mit steifen Haaren reichlich ausgestattete Milbe. Canestrini<sup>4</sup>) identifiziert sie mit *Glycyphagus prunorum* Hering. Nach ihm soll die Nymphe durchaus dem erwachsenen Tiere ähnlich, nur wie gewöhnlich viel kleiner sein. Es sind sehr bewegliche Tierchen, die im Heu, im Staube der Häuser und in Zersetzung begriffenen Substanzen leben, überall in großen Mengen. — Von mir wurde die Art aus italienischem Preßfutter isoliert, das in der Hauptsache aus Strohhecksel bestand. In 3 verschiedenen Proben wurde sie jedesmal in großen Mengen gefunden. Nach meinen allerdings nicht des näheren verfolgten Wahrnehmungen besitzt das Tierchen ein *Hypopus*-Stadium, das offenbar unbeachtet

1) Die Art ist identisch mit *Acarus domesticus* Contarini (Venezia e le sue lagune. II. p. 162) und mit *Aleurobius farinae* G. Canestrini. Dieser Forscher trennt sie von der Gattung *Tyroglyphus* (Atti R. Istit. Veneto. Ser. VI. Vol. VII. 1887/98).

2) Canestrini, l. c.

3) Diese Art ist identisch mit *Glycyphagus spinipes* Targioni-Tozzetti (Relaz. intorno ai lavori della Staz. di Entom. agraria di Firenze. Vol. LXXXIV. p. 72. Taf. 2 Fig. 3) und mit *Acarus spinipes* Canestrini e Fanzago (Acari ital. p. 129).

4) l. c.

blieb. Auch Encystierung<sup>1)</sup> ist häufig zu finden gewesen. Den Kulturen wurde Fließpapier, dann Korkscheiben zugegeben, in denen große Mengen von Larven und Nymphen sich festsetzen. Es war leicht zu bemerken, daß die Tierchen ihre Brut gern in die Spalten des Korkes legen.

3) Ein nicht näher bestimmter Vertreter der Gattung *Tarsonemus*, isoliert aus altem Hartkäse, in dem er in zahllosen Exemplaren lebte, ferner aus Maisgries. Die Art scheint dem *Tarsonemus floricolus* Canestrini l. c. nahe zu stehen und wird hier als *Tarsonemus spec.* bezeichnet.

Zunächst handelt es sich darum, größere Mengen der Tiere zu besitzen, um die Infektionen jedesmal mit Hunderten jungen und alten gesunden Tieren vornehmen zu können. Sie pflanzten sich im groben Mehl und feinen mehlhaltigen Kleien ausgezeichnet fort. Eine Vermehrung wurde erreicht, wie sie sonst nur selten angetroffen wird. So war es z. B. ein leichtes, eine genügende Menge Milben (0,3—0,4 g Lebendgewicht) in fast reinem Zustande zu den später notwendig gewordenen Wasserbestimmungen zu erhalten.

Das zur Vermehrung dienende Mehl wurde im Kochschen Dampftopfe zwecks Wasseraufnahme sterilisiert. Es war also das Ausgangsmaterial steril oder wenigstens pilzarm; die Substanz mit den 3 Milben beschickt, bildete das Infektionsmaterial. Um Futtermehle verschiedenen Wassergehaltes zu besitzen, läßt man sie im Dampftopfe oder unter feuchter Glocke eine Zeitlang stehen, wodurch nach einiger Uebung gut vergleichbare Wassergehalte erzielt werden. Die Milben wurden kultiviert in breiten Standgläsern von ca. 500 ccm Inhalt, die mit eingeriebenen Stopfen oder mit Kork verschlossen waren. In ihnen befand sich je 80—100 g des Nahrungsmittels, das mit 5—10 g des Infektionsmaterials versetzt wurde. Die Infektion wurde mit sehr milbenreichem Material ausgeführt. Jede der drei Milbenarten pflanzte sich in mindestens 2, häufig in 3 und mehr Gläsern im Futtermittel des gleichen Wassergehaltes fort. Gezüchtet wurden die Milben über 1 Jahr lang, sofern nicht Verschimmelung und Krankheiten der Vermehrung ein Ende setzten.

#### Die Kulturen. Beweglichkeit der Milben und Milbennachweis.

*Tyroglyphus* und *Tarsonemus* pflanzen sich in allen untersuchten Futtermitteln weit besser fort als *Glycyphagus spinipes*. Alle drei Arten färben das Nahrungsmaterial nach einiger Zeit etwas dunkler. Die Vertreter der zwei ersten Gattungen verleihen allen Mahlprodukten der Cerealien bei guter Vermehrung schon nach 1 Monate den charakteristischen Honiggeruch, der mit der Zeit sehr intensiv bis stinkig-widerlich wird. *Glycyphagus* erzeugte ihn fast gar nicht; die reichen Kulturen dieses Tierchens rochen eher modrig. Der natürliche Geruch der Futtermittel verdeckt bis zu einem gewissen Grade den durch Milbenentwicklung erzeugten und es riechen darum Erdnuß-, Raps-, Lein- und etwa auch Sesamkuchen erst dann, wenn sie durch Milben eine starke Zersetzung erfahren haben.

Futtermittel, in denen die Milben etliche Monate sich vermehren, zeigen die folgende auffallende Erscheinung. Die gröberen Partikel werden von den Milben scheinbar an die Oberfläche befördert, wovon

1) Trouessart, Compt. rend. soc. biol. T. LVI. p. 234 u. 365.

man durch Abheben der obersten Schicht des Futtermittels sich leicht überzeugen kann. Die Scheidung in grob- und feinkörnige Fragmente erklärt sich dadurch, daß die Mehlteilchen bis auf die Frucht- resp. Samenschalen verzehrt werden, während gleichzeitig die kleineren Teile samt Kotklumpen und den Bälgen der Milben durch ihre eigene Minierarbeit herunterfallen. Zudem halten sich die Milben, wenn sie auch das ganze Material durchwühlen, hartnäckig in den oberen Schichten des Substrates auf.

In dieser Region ist das Futtermittel an einzelnen Stellen zuweilen besonders dunkel gefärbt. Dies rührt von Ansammlungen der Milben und von ihren Abfallprodukten her. Manchmal sammeln sich die Tierchen an einigen vom Futtermittel nicht bedeckten Stellen der Glaswand, weit seltener in den tieferen Partien des Futtermittels, in denen es dann zur Höhlenbildung kommt, fast nie am Boden des Kulturglases. Es laufen dabei sowohl junge als alte Milben sehr lebhaft hin und her und kehren immer wieder an den gleichen, durch kaum ein paar Quadratcentimeter zu deckenden Flächenraum zurück. Es konnte nicht ermittelt werden, welche Bedeutung die große Geschäftigkeit besitzt. Mit der Begattung hat sie nichts zu tun, diese geschieht nicht in Gesellschaft und man kann in jedem Glase beobachten, wie das Weibchen das an ihr mittels der Haft- und Genitalnäpfe festgemachte Männchen, manchmal deren 2, lange Zeit im ganzen Glase geduldig umherträgt<sup>1)</sup>. Diese lokale Ansammlung wird auch nicht hervorgebracht durch einseitige Beleuchtung oder Erwärmung und sie ist von den gleich zu erwähnenden Erscheinungen, die mit der Wanderlust der Milben zusammenhängen, wohl zu unterscheiden.

Nicht nur die gepflegten drei Arten der Milben, sondern alle Milben, die mir je zu Gesicht gekommen, zeigen eine weitere Eigentümlichkeit. Sie ist nicht nur von der Art, sondern auch vom Substrate und sonstigen Umständen unabhängig und besteht in der Vorliebe der Milben, an den vom Futtermittel entblößten Teilen der Glaswand zu wandern, besonders wenn diese von ihrem eigenen Kote nicht beschmutzt sind. Die Reismilben sind sehr zahlreich und sie legen auch dort von der Verseuchung Zeugnis ab, wo alle übrigen Mittel des Nachweises versagen. Es mag darum hier dieser Milbennachweis mit dem sonst üblichen verglichen werden. Die mikroskopische Prüfung führt bekanntlich nur dann zum Ziele, wenn sehr viel Milben vorliegen. Schon früher l. c. benutzte ich die Wühlarbeit der Milben als Mittel ihres Nachweises. Die Milben durchstöbern das Futtermittel, gelangen auch an die Glaswand und lassen die sonst unsichtbaren Spuren ihres Daseins in Form von Gängen zurück. Darauf beruht auch die bekannte Milbenprobe, welche jedoch zum Nachweise die Kanalarbeit der Milben benutzt, wie sie sich in der Bildung von Häufchen auf unbedeckter geglätteter Mehlfläche äußert. Wenn auch der Beobachtung von Gängen und Mehlhäufchen entschieden der Vorzug vor der mikroskopischen Methode des Nachweises gebührt, so ist sie doch nur auf Substanzen von einigermaßen mehligter Beschaffenheit beschränkt, da nur an solchen erwähnte Bildungen sichtbar sind. Blätterige oder grobgemahlene Stoffe bleiben, so befragt, die Antwort schuldig, und es war darum notwendig, einen Vergleich zwischen diesen drei Arten der Milbenermittlung zu ziehen.

1) Interessante biologische Daten zur Kenntnis der Begattung liefert Trouessart (Compt. rend. soc. de biol. T. LVI. p. 367); mit der Anatomie beschäftigt sich Nalepa (Wiener Akad. 1885. I. Abt. p. 149 u. f.).

Zu je 5 g Mehl wurden 5–30 Milben zugefügt, wobei Berührung der Tierchen mit einem Pinsel und dergleichen vermieden wurde. Zu dem Zwecke wurde eine geringe Menge auf Glanzpapier gestreut und die überschüssigen Tiere mit halbfeuchtem Fließpapier fortgewischt, das abgewogene Mehl dann mit den abgezählten Milben auf dem gleichen Papier innig gemischt. Das Mehl wurde flachgedrückt (gew. Milbenprobe) oder in ein Glas geschüttet. Im Präparatengläse von 250 ccm Inhalt wird das Mehl mit einem Hornlöffel seitlich in der Weise ange-drückt, daß es eine möglichst große Fläche der Wand deckt. Die übrige Glaswand wird mit einem Pinsel von allen Mehresten gereinigt. Zur Benutzung gelangte *Glycyphagus* und *Tyroglyphus*.

Tabelle I.  
Versuche über Milbennachweis.

Zahl der Milben, die in je 5 g Mehl sich befanden	Zahl der Häufchen an der glatt- gedrückten Mehl- fläche	Mehl im Präparatengläse	
		Kanäle im Mehl, an den Glaswänden sichtbar	Zahl der wandernden Milben an der vom Mehl nicht bedeckten Glaswand
5 (beide Milben)	nach $1\frac{1}{2}$ Tagen: 0	0	0
15 (beide Milben)	„ $1\frac{1}{2}$ „ 0	—	—
15–20 ( <i>Glycyphagus</i> )	—	nach $\frac{1}{2}$ –2 Stdn.: 0	nach $\frac{1}{2}$ –2 Stdn.: 6
15–20 ( <i>Tyroglyphus</i> )	—	„ $\frac{1}{2}$ –2 „ sehr wenig	„ $\frac{1}{2}$ –2 „ 15
30 (beide Milben)	nach $1\frac{1}{2}$ Tagen: 0	nach $\frac{1}{2}$ –2 Stdn.: wenig	„ $\frac{1}{2}$ –2 „ 15–20

Es ist also viel vorteilhafter, die freien Wände in einem mit dem Material beschickten Standglase als die geglättete Fläche oder die Milbengänge eines milbenreichen Mehles zu beobachten. Das Verfahren kann auch auf grobes Material Anwendung finden. Die Milbenwanderung hörte nach ca.  $1\frac{1}{2}$  Tagen auf. Ueberschreitet die Menge 3 Milben pro 1 g Substanz, so kann man auf diesem Wege in weiten Grenzen eine Vorstellung über die Milbenzahl sich bilden. Es wurde auch mit gutem Erfolge versucht, ein sehr milbenreiches Futtermittel so lange mit einem milbenfreien zu verdünnen, bis nach dem Beschicken eines Glases mit 5 g Substanz an den Glaswänden keine Milben auftraten. Ein grobes Weizenfuttermehl war hierzu besonders geeignet, da es so kolossale Mengen der *Tyroglyphinae* enthielt, daß sofort nach der Füllung zahlreiche Kanäle und wandernde Milben zu bemerken waren. Die Bemühung, durch die Zählung der wandernden Milben ihre absolute Menge in 100 Substanz annähernd zu berechnen, war durchaus erfolglos.

Viele Versuche zeigten, daß eine nennenswerte Zunahme der wandernden Milben eintritt, wenn das Gefäß, in das die Substanz gelangt, unmittelbar vor dem Füllen mit einem Tuche gut abgewischt wird. Die Folge ist, daß beispielsweise statt 2 und 7 nunmehr 10 und 21, statt 16 und 19 nunmehr 22 und 33 Milben auf Reisen gehen.

Dieses merkwürdige Verhalten der Milben, für das ich keine Erklärung habe, konnte wiederholt beobachtet werden. Die Gefäßwände der älteren, in reichlicher Vermehrung befindlichen Kulturen bedecken sich mit Kotballen und Haarbälgen. Infolgedessen werden sie punktiert bis völlig undurchsichtig und in extremen Fällen gelblich bis schmierig von der großen Menge der Abfallstoffe. An Glaswänden, die in solcher Weise verunreinigt sind, wandern nur sehr wenige Milben. Dies ändert

sich zusehends, sobald man etwas vom betreffenden verseuchten Futtermittel in ein reines Gefäß überträgt. Zahllose Milben werden in kurzer Zeit wandern, die Wände bedecken und manchmal zu Hunderten an gewissen Stellen sich ansammeln, wahre Milbenversammlungen bilden. Gleiches geschieht, wenn die Wände eines beschmutzten, eine alte Kultur enthaltenden Gefäßes mit einem feuchten Tuche sorgfältig gereinigt wurden. Schon nach  $\frac{1}{4}$  Stunde beginnt die Wanderung und nach 1—2 Stunden sind Hunderte von Milben an den Wänden vorhanden. Aus solchen Gläsern lassen sich die Tiere ohne große Mühe herauspinseln. Wird nach jeder Entnahme das Glas frisch gewischt, so kann man leicht 0,25—0,4 g Milben gewinnen, ohne daß es den Anschein erweckt, als ob ihre Zahl abgenommen hätte. Einige Handgriffe, die hierzu nötig sind, ergeben sich von selbst. Es müssen für solche Zwecke grobkörnige Substanzen Verwendung finden, da mehlige an den Tierchen zu sehr hängen bleiben<sup>1)</sup>.

Da die Zählung der Reisemilben keinen Anhalt gibt über die wirkliche Menge, so wurde durch Anwendung der erwähnten Manipulationen versucht, die Tierchen zu größerer Beweglichkeit anzuspornen, sie aufzufangen und zu wägen. Ein willkommenes Objekt bot der Gries auf einem uralten Walliser Hartkäse, einem sogenannten hundertjährigen Käse, den ich der Gefälligkeit des Herrn Dr. Zurbriggen in Gampel (Kanton Wallis) verdanke. Die Prüfung mit der Lupe ließ vermuten, daß wohl die Hälfte dieses Grieses aus Milben bestand. 3,364 g des Grieses wurden in 3 weite, mit Gummistopfen versehene Reagenzgläser, die an ihrem unteren Ende eine kugelige Erweiterung besaßen, verteilt. Ueber der Hohlkugel war das Reagenzglas verengt und an diese Stelle wurde ein mit einem Schlauch besetzter Glasstab angepaßt, daß er die Verbindung zwischen der Hohlkugel und dem übrigen Teil des Reagenzglases dicht abschloß. Die Milben sollten, wie gewohnt, den Wänden entlang kriechen; die Verbindung könnte unterbrochen und die Tierchen durch Auspinseln in besonderer Reinheit gewonnen werden. Sie gingen indessen auf diese Absichten nur teilweise ein, meist zogen sie vor, die höchste Stelle der Hohlkugel in der Nähe der Verengung aufzusuchen und dort große Rührigkeit zu zeigen. Wurde das Reagenzglas geneigt, so folgten sie der gleichen Taktik, strebten danach, die höchste Stelle in der Hohlkugel zu erreichen, welche nunmehr natürlich viel weiter von der Oeffnung entfernt war als bei geradem Stande des Reagenzglases. Eine ansehnliche Anzahl fand sich dennoch im eigentlichen Reagenzglase ein, und es konnten aus dem von Käseresten möglichst befreiten Gries durch das erste Auspinseln auf einen Wurf 0,342 g Milben oder 10,60 Proz. der Substanz gewonnen werden. Durch Wiederholung der Manipulation wurden 0,149 und 0,301, zusammen also 0,792 g Milben oder 23,54 Proz. des Grieses erhalten. Der Versuch wurde unterbrochen, der Milbenvorrat damit noch lange nicht erschöpft und man geht wohl nicht fehl, wenn man ihn auf mindestens 40 Proz. schätzt. Diesen Reichtum wiesen meine Kulturen wohl niemals auf, doch dürfte

1) Um größere Mengen kleiner Tiere aufzufangen, hatte Antonio Berlese einen besonderen Apparat konstruiert, doch handelt es sich hierbei mehr um Gewinnung von Präparationsmaterial, da seine Vorrichtungen dahin zielen, die Organismen direkt in ein zweckmäßig angebrachtes Reagenzglas mit Alkohol gelangen zu lassen. Dieser Forscher wendet den Apparat für Moose, Rinden und ähnliches an, zum Austreiben von Milben aus Futter- und Nahrungsmitteln ist er wohl weniger bequem. (Vergl. *Apparecchio per raccogliere etc. in gran numero piccoli artropodi* Redia. Giorn. di Entomologia. Vol. II. 1904. Fasc. 1. p. 85.)

auch in ihnen bei günstiger Vermehrung 25 Proz. der Substanz aus Milben bestehen. Unter natürlichen Verhältnissen bieten sich den Milben jedenfalls weit bessere Entwicklungsbedingungen dar als unter denjenigen der Gefangenschaft. Ueber solche kolossale Milbenmengen berichtet auch Trouessart<sup>1)</sup>; nach ihm bestand die Hälfte eines ansehnlichen Quantums Mehl, das in Säcken gelagert war, aus lebenden Milben und ihren Häuten.

Die Wanderlust der Milben erhöht die Gefahr der Invasion und ist darum für die praktische Betrachtung nicht ohne Bedeutung. Es wurde darum untersucht, welche äußere Umstände sie beeinflussen. Bei Zimmertemperatur von 12—16° C nimmt das Wandern kolossale Dimensionen an. Werden die Kulturen ein paar Wochen bei 8—9° C gehalten, so ist die Verlangsamung der Bewegung kaum merklich. Bedeutende Verzögerung der Wanderung tritt in Kulturen auf, die zwischen Doppelfenstern im Winter 3—4 Tage bei einer Temperatur von 5—6° sich befinden. Der Einfluß der Temperaturerniedrigung war an *Tyroglyphus* und *Tarsonemus* bemerkbarer als an *Glycyphagus*; nirgends führte sie zu eigentlichem Stillstande. Eine sehr starke Verlangsamung der Bewegung trat während eines 3-tägigen Aufenthaltes (19.—22. Januar 1904) der Kulturen bei —5° bis —2° ein. Auch hier machte sich kein dauernder Nachteil geltend. Nicht ein einziges Exemplar der Milben ist getötet worden. Alle den Temperaturen unter 12—16° ausgesetzten Kulturen zeigten nachher eine ganz normale Fortpflanzung und wiesen am 1. Januar 1904 einen kolossalen Reichtum an alten und jungen Tieren auf.

Die Milben gehorchen offenbar gewissen Reizen, die wir vorläufig nicht genauer kennen. So wurde in zahlreichen Kulturen beobachtet, daß sie in Kulturgefäßen mit großer Vorliebe an der dem Fenster zugewandten Seite sich ansammeln. Bedeckt man die Gläser mit Schirmen von schwarzer Pappe, stellt sie außerdem in Kisten oder Pappschachteln und schützt das Ganze durch vorgelegte Bretter vor Licht, so sammeln sich die Milben trotzdem an der dem Lichte zugekehrten Seite an. Gleiches Verhalten zeigen die Milben in denjenigen Kulturgefäßen, welche in Schränke oder in den ungeheizten Thermostaten gestellt wurden. In kurzer Zeit befinden sich fast alle wandernden Milben an der dem Fenster zugekehrten Seite. Die Raschheit, mit der dies geschieht, ist frappant. Dreht man nämlich Gläser, welche, ohne daß sie direkt von den Sonnenstrahlen getroffen wären, in der Nähe des Fensters lagen, um 180°, so zerstreuen sich die Milben schon nach  $\frac{1}{4}$  Stunde. Nach einer weiteren Viertelstunde sind wieder zahlreiche Milben an der Fensterseite versammelt. Man kann im Laufe eines Nachmittags das Experiment mehrere Mal mit stets gleichem Erfolge wiederholen. Wie einige vorläufige Beobachtungen bewiesen, ist die Erscheinung kaum direkt auf den Heliotropismus der Tierchen zurückzuführen. Das Gaslicht oder eine dunkle Wärmequelle, wie ein kupferner, am Abend in die Nähe gebrachter und auf 50—70° erwärmter Trockenkasten vermögen die Milbenbewegung auch nicht zu beeinflussen. Die Beeinflussung der Milben dürfte durch unsichtbare Strahlen, vielleicht durch dunkle Wärmestrahlen geschehen. Doch kann darüber nichts ausgesagt werden, da mich diese Beobachtungen nur beiläufig beschäftigten.

Das direkte Sonnenlicht übt eine ganz andere Wirkung auf die

1) Compt. rend. soc. de biol. 1897. p. 931.



Milben aus. Es treibt im eigentlichen Sinne die Tierchen aus dem Futtermittel und läßt sie an der der Sonne abgewandten Seite sich ansammeln. Mitte Juli wurden die Kulturen an 4 aufeinander folgenden Tagen zwischen 2 und 4 $\frac{1}{2}$  h Nachmittag dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt. Die Kulturgläser waren mit Wattebüschchen, durch welche die Milben nicht passieren, verschlossen, die Glasstopfen nur angelehnt. Bei einem Wassergehalte zwischen 15 und 16 Proz. findet nach 1-stündiger Belichtung reichliche Dampfbildung statt. Infolgedessen ist an der der Sonne abgewandten Seite der Glaswand eine beträchtliche Ansammlung von Wassertropfen zu bemerken. Gleichzeitig begeben sich die Milben auf diese Seite und tummeln zu Hunderten in den Tropfen. Sie gleiten in ihnen hin und her und können sie nur mit Mühe verlassen. Gegen den Abend kehren fast alle Tiere in das Futtermittel zurück und verkriechen sich in ihm. Am folgenden Morgen sind nur vereinzelte Milben an der Glaswand zu beobachten; auch die Wassertropfen sind verschwunden. Lange Striemen, die von den Stellen, an denen diese sich befanden, bis zum Futtermittel führen, gebildet von geringen Mengen des fein verteilten und eingetrockneten Milbenkotes, sowie von Spuren des Futtermittels, bezeichnen den Weg, den die Milben nahmen. Die Fortpflanzung war während der ganzen Dauer des Versuches eine völlig normale. Besonders diejenige des *Tarsonemus*. Diese Art gedieh, als ob nichts vorgefallen wäre. In den zurückgestellten 9 Versuchsgläsern waren aber nach einem Monate fast alle Tiere gestorben, es lebten nur vereinzelte junge Exemplare des *Tyroglyphus*. So scheint der Versuch die alte Erfahrung zu bestätigen, daß man die starke Vermehrung der Milben verhindern kann, wenn man die von ihnen befallenen organischen Substanzen dann und wann der Sonne und der Luft aussetzt.

#### Hungerzustand. Einfluß des Wassergehaltes der Futtermittel.

Für die Beurteilung der Lebensweise der Milben ist es von Wichtigkeit zu wissen, ob sie ähnlich manchen in Speichern gefürchteten Insekten Zeiten des Nahrungsmangels überdauern. Die Zahl der Milben, welche durch Tiere in Form der Wanderlarven verschleppt, solche Räume heimsucht, kann nicht sehr groß sein. Es ist darum nicht unmöglich, daß sie in allerlei Verstecken in der Hungerstarre günstige Zeiten abwarten. Dies ließ sich um so eher vermuten, als ihre Verwandten, die Spinnen, in hohem Grade eine solche Fähigkeit besitzen und, wie behauptet wird, im Hungerzustand sogar jahrelang verharren.

Die untersuchten 3 Arten als ausgewachsene Tiere sind hierzu gar nicht befähigt. Einige Hunderte von solchen wurden am 24. Januar 1903 in leere breite Wägegläschen gestellt. Am 27. Januar waren nur wenige Exemplare des *Tyroglyphus* und *Tarsonemus* lebend, jedoch sehr geschwächt, von *Glycyphagus* lebte ca.  $\frac{1}{3}$  der eingesetzten Exemplare. Am 29. Januar waren alle Milben tot, nur von *Glycyphagus* lebten noch 2 Tierchen, die jedoch den nächsten Tag nicht überstanden. *Glycyphagus spinipes* ist auch in anderen Beziehungen die widerstandsfähigste Milbe.

Auf das geringe Wasserbedürfnis der die organische tote Substanz schädigenden Insekten wurde wiederholt hingewiesen, ohne damit etwas anderes sagen zu wollen, als daß sie „in pfefferdürren Futtermitteln“ ohne

Zufuhr einen Tropfen Wassers fröhlich gedeihen. Man zog hierbei den Wassergehalt des Nährmediums nicht in Betracht. Jeder Beobachter von Lagern kann sich davon leicht überzeugen, daß Insekten weit unter dem Minimum des Wassergehaltes sich fortpflanzen, welches für die Pilzentwicklung notwendig ist. Wie die folgenden Ausführungen ergeben, stellen dagegen die Milben die gleichen Ansprüche an den Wassergehalt des Nährmediums wie die Schimmelpilze. Drei mittelfeine, im Vakuumtrockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknete, also fast wasserfreie Mehle wurden mit Milben beschickt. Die in großer Anzahl benutzten Milben starben nach Verlauf von 2—3 Wochen und es zeigten sich auch nach 2 Monaten keine jungen Tiere. Die Milben vertrugen das trockene Klima nicht und es war nicht anzunehmen, daß sie in anderen wasserfreien Substanzen besser gedeihen würden. In der Tat zeigte ein ähnlicher Versuch mit in gleicher Weise getrockneten Fettkuchen von Erdnuß, Sesam, ferner auch mit Kleie, welche Substanzen jedoch 2 Tage lang nach dem Trocknen in verschlossenen Gläsern (aber nicht im Exsiccator lagen, daß auch hier Trockenheit die Fortpflanzung vollständig verhindert. Auf das Aussterben der Milben in Mehlen, welche bei 80—120° im gewöhnlichen Trockenschrank gedorrt wurden und einen Wassergehalt von 6,6—8,3 Proz. besaßen, ist um so weniger Wert zu legen, als angeblich die Tiere in Cakes und Biscuits von 5—9 Proz. Wassergehalt große Schäden anrichten, und hier außerdem geringe Mengen brenzlicher Produkte die Milben vielleicht beeinträchtigen konnten. In allen solchen Stoffen vermehrten sich die Milben anfänglich sehr langsam und starben nach 1½—2 Monaten. Der Wassergehalt der Futtermittel, bei dem die Tiere gerade existieren können, liegt also höher. Die folgende Zusammenstellung in Tabelle II aus Versuchen mit Futtermitteln, deren Wassergehalt künstlich erhöht wurde, lassen es wahrscheinlich erscheinen, daß bei dem Wassergehalte von 12—13 Proz. die Milben sich nicht so reichlich vermehren als bei solchem von 14 und 15 Proz. Ihr Fortkommen bei noch höherem Wassergehalte zu untersuchen, hatte keinen Zweck, da 15—16 Proz. das gewöhnliche Maximum darstellt und schon dieser Gehalt die Gefahr des raschen Verschimmels nach sich zieht<sup>1)</sup>. In der Tabelle II sind diejenigen Wassergehalte der verschiedenen Futtermittel, welche für die Milbenvermehrung sich wenig oder gar nicht eigneten, oder bei welchen nach 2—3 Monaten Verschimmelung der Substanz oder der Milben, zuweilen auch beider eintrat, gewöhnlich gedruckt; dagegen Futtermittel, deren Wassergehalte eine reichliche Vermehrung veranlaßten, schräg gedruckt, diejenigen, bei denen eine kolossale Vermehrung der Milben eintrat, fett gedruckt. Man sieht, daß Futtermittel der ersten Spalte links mit ursprünglichem oder ganz wenig erhöhtem Wassergehalte der Milbenvermehrung gar nicht förderlich waren. Jede Unregelmäßigkeit im Versuche wurde ausgeschaltet und es wurden in Tabelle II nur die Wassergehalte durch Schrägdruck hervorgehoben, unter denen alle drei Arten der Milben sich gleich verhielten. Die Tabelle II gibt also den Einfluß des Wassergehaltes auf das Gedeihen unserer drei Tyroglyphinae ohne Ein-

1) Tuinzing, Landw. Versuchsstat. Bd. LVI. 1902. p. 153, bezeichnet den Wassergehalt über 14 Proz. bei Leinkuchen als kritisch und gibt Belege für die bekannte, durch Verschimmelung erzeugte Zunahme des Wassergehaltes. Van Ryn-Mastricht, Landw. Versuchsstat. Bd. LII. 1899. p. 33, berichtet, daß nach Beobachtungen holländischer Stationen sogar bei über 13 Proz. Neigung zur Verschimmelung vorhanden, bei 12 Proz. aber selten.

schränkung wieder. In rindenfreien Sägespänen tritt in keinem Falle Vermehrung ein, die Milben sterben in ihnen nach kurzer Zeit aus.

Tabelle II.

Vermehrung der Milben in Futterstoffen bei verschiedenem Wassergehalte in Proz.

(Schräg gedruckte Ziffern große, fett gedruckte kolossale, gewöhnlich gedruckte geringe Vermehrung aller 3 Milben.)

	Wassergehalte.				
Weizenkleie	11,4	13,2	14,2	15,8	—
Maisgries	13,72	15,22	16,32	16,52	18,56
Leinkuchenmehl	12,02	13,5	15,92	16,02	—
Erdnußkuchenmehl	11,04	13,08	15,96	16,5	—
Sesamkuchenmehl	10,94	14,0	15,08	über 15	—
Rapskuchenmehl	10,82	12,62	13,90	16,06	—

Der günstige Einfluß des höheren Wassergehaltes tritt hier unzweideutig zu Tage. Darüber sind auch die Belege am Schlusse zu vergleichen. In Uebereinstimmung damit stehen meine sonstigen Beobachtungen. Alle 3 Milben vermehrten sich sehr schlecht oder gar nicht im Heuhäcksel bei 7—9,2 Proz. Wassergehalt, während sie in solchem von 13,5—14 Proz. gut fort kamen. Ähnliches Verhalten wiesen sie auf in den erwähnten mittelfeinen Mehlen von 6—8 Proz. Wasser, in denen die Vermehrung bei 15 und 16 Proz. sehr lebhaft ist, und bei 19,2—21,5 Proz. Wasser jedoch nur *Glycyphagus spinipes* sich befriedigend entwickelte. In sonstigen Futtermitteln, welche kolossale Milbenmengen entweder sofort oder nach 2—3-wöchigem Zuwarten aufwiesen, hielt sich der Wassergehalt fast durchweg in gleicher Höhe: Haferschrot 14,9, Maisgries 16,26, Weizenkleie 13,92 und 16,36, Weizenmehl 14,22 und 15,14, Erdnußkuchenmehl 14,44 Proz. Wasser, während die gleichen Stoffe bei niedrigerem Gehalte an Wasser offenbar kaum ausreichende Fortpflanzungsbedingungen boten, so daß die Tiere sich fast nicht vermehrten und ohne daß Verschimmelung eintrat, ausstarben.

#### Das Milbensterben. Uebertragung von pathogenen Pilzen und der Parasitismus.

Aus der Tabelle II und den Belegen geht hervor, daß ein Wassergehalt von 14,5—16 Proz. der Milbenentwicklung sehr günstig ist. Nun fördert ein solcher auch die Verschimmelung. Die diesen Wassergehalt besitzenden, als Milbennahrung verwendeten Futtermittel sind fast ausnahmslos in 6—9 Monaten verschimmelt. Die Pilzentwicklung machte sich sehr früh, nämlich schon nach 2—4 Wochen nach Anlage der Reinkultur bemerkbar.

Sobald die Schimmelbildung eingreift, die Pilze durch Atmung Wasser erzeugen, erfährt das Futtermittel eine Zunahme des Wassergehaltes, welche wiederum die weitere Verschimmelung begünstigt. So stieg bei Zimmertemperatur in verschimmelter gebrochener Gerste der Wassergehalt von 14,4 Proz. auf 30,38 Proz. vom 1. März bis 8. Sept. 1904, in einem Erdnußkuchenmehl in gleicher Zeit von 14,44 Proz. auf 51,24 Proz. und 11,14 Proz. auf 30,56 Proz. Diese Tatsache ist längst bekannt und zuerst wohl an schimmeligem Brote, seitdem an verschiedenen Futtermitteln mehr gelegentlich studiert worden, wenngleich eine systematische Untersuchung noch aussteht. Auch in den als Milbennahrung verwendeten Substanzen fand Erhöhung des Wassergehaltes statt. Hierzu

sind die Belege am Schlusse zu vergleichen, denen wir einige Zahlen entnehmen. Die Kulturgläser waren mit eingeschliffenen Stopfen versehen und dieser Verschuß gestattete, wenn man auch von der zeitweise vorgenommenen Lüftung absieht, dem Luftsauerstoff den Zutritt. Der Wassergehalt stieg im Laufe von ein paar Wochen bis zu ein paar Monaten in der Kleie von 13,2 Proz. auf 53,9 Proz., von 14,2 auf 21,5 Proz., von 15,8 auf 32,6 Proz., 40,0 Proz. und 40,8 Proz. in der Zeit vom 11. Juli 1903 bis zum 17. März 1904. Die 3 zuletzt genannten Proben besaßen am 22. April 1904 die Wassergehalte von 21,6 Proz. resp. 47,78 Proz. und 49,26 Proz. Im Rapskuchen stieg der Gehalt in 6 Monaten von 16,2 auf 23,88 Proz., im Erdnußkuchen von 13,08 Proz. am 10. Juli 1903 auf 25,14 resp. 25,62 Proz. am 30. August 1904. Die Intensität der Verschimmelung sowie die Vermehrung der Milben steigen und fallen mit dem Wassergehalte. Wenn auch die Zunahme an Wasser mit Recht auf die Lebenstätigkeit der Pilze zurückgeführt wird, so ist es nicht ausgeschlossen, daß die Menge der Milben sie beeinflusst, da die Milben, wie gezeigt, wenn sie sich reichlich vermehren, einen nicht unerheblichen Teil der Substanz, die sie ernährt, bilden. Der Gewichtsanteil der Milben beträgt beim Käsegries nachweislich 23,54 Proz. und ist in Wirklichkeit viel höher. Nach dem Augenscheine geschätzt, hat er in den Kulturen manchmal 25 Proz. der Substanz betragen. Um die Frage zu entscheiden, müssen wir den Wassergehalt der Milben kennen. Während der erwähnte Käsegries samt Milben den Wassergehalt von 38,51 Proz. besaß, wiesen seine besonders rein gewonnenen Milben No. 5—7 der Tabelle III einen solchen von rund 64—68 Proz. auf. Es dürften darum die Milben, welche ein dem Schimmelangriffe ausgesetztes Mehl bewohnen, dessen Wassergehalt ganz wesentlich, manchmal wohl um 20 Proz., erhöhen. Die Milben, welche zu den nachstehend in Tabelle III angeführten Wasserbestimmungen dienten, wurden durch schon erwähnte Manipulationen gewonnen.

Tabelle III.  
Bestimmungen des Wassergehaltes in Milben.

	H <sub>2</sub> O-haltig	H <sub>2</sub> O-frei	H <sub>2</sub> O
1. Mischung von Tyroglyphus u. Tarsonemus	0,331 g	0,131 g	60,43 Proz.
2. do. mit sehr wenig Kotballen	0,186 "	0,078 "	58,07 "
3. Tarsonemus mit wenig Tyroglyphus	0,501 "	0,182 "	63,78 "
4. Glycyphagus spinipes, sehr rein	0,422 "	0,164 "	61,14 "
5. Milben aus altem Walliserkäse, eine Spez. von Tarsonemus, daneben Tyroglyphus sp. und eine unbestimmte, sehr rein	0,301 "	0,097 "	67,74 "
6. do.	0,149 "	0,054 "	63,76 "
7. do.	0,342 "	0,124 "	63,76 "
(8. Tarsonemus spec., besonders rein	0,288 "	0,086 "	70,14 " )

Schließt man die vielleicht fehlerhafte letzte Bestimmung aus, so sind zwar die Schwankungen der Gehalte in Tabelle III recht groß, doch begründet durch die kleinen Mengen der angewandten Substanz. Der Wassergehalt der Milben liegt also zwischen 60 und 67 Proz. Den exakten Beweis dafür zu erbringen, daß die Milben an dem steigenden Wassergehalte sich beteiligten, ist äußerst schwer und die Versuche, sterilisiertes Material mit pilzf freien Milben zu infizieren, sind vollständig mißlungen. Dies ist sehr begreiflich, da die notwendig lange Zeitdauer des Versuches große Schwierigkeiten bereitet.

Das Auftreten der Pilze ist für die Milben verhängnisvoll, in verschimmelten Kulturen sterben sie fast ausnahmslos in kurzer Zeit, seltener erst nach ein paar Monaten; sie verschimmeln. Weniger oft findet Verschimmelung der Substanz statt, ohne daß die Milben darunter litten. Außerdem treten unter Milben Epidemien auf, die wohl sicher den Pilzen nicht zuzuschreiben sind. Das Bild der Milbenerkrankung ist sehr mannigfaltig, wenn auch die Krankheit selbst wahrscheinlich stets ihren Ursprung der Kulturnahrung verdankt. Das große Sterben mag in Verbindung stehen mit der einseitigen Ernährung, wenig wechselnden Temperatur des Laboratoriums und anderen Umständen, welche das Leben der Gefangenen mit sich bringt. Unsere geringen Kenntnisse der Milben schließen aber nicht aus, daß auch freilebende Tiere solchen Erkrankungen ausgesetzt sind. Dafür spricht der Umstand, daß unter den in allerlei Gebrauchsgegenständen sporadisch anzutreffenden Milben das Sterben sich gleichfalls bemerkbar macht und tote Milben mit dem Glorienschein der nach allen Seiten gleichmäßig strahlenden Konidien- und Sporangienträgern der Pilze umgibt. Nicht selten fallen unter den, in leeren Schachteln, Sieben, entleerten Gefäßen u. a. m., zurückbleibenden Resten verschiedener Stoffe solche Milben in die Augen.

Es gibt also einige Krankheitstypen, die man durch folgende Merkmale unterscheiden kann. Es unterliegen die Milben einer Erkrankung, welche im Schmierigwerden der Gefäßwände, durch reichliche Kotentleerung veranlaßt, sich äußert. Die Tiere leiden an Durchfall, der ihren Tod bald herbeiführt und erst dann tritt Verschimmelung der toten Milben ein. Häufig sterben jedoch die Tiere an dieser Krankheit, ohne daß Pilze zu ihren Lebzeiten oder nach ihrem Tode sie befallen hätten. Hiervon gänzlich verschieden ist das Eintrocknen der Milben an den Glaswänden. Sie verlangsamen ihre Bewegungen, haften an den Wänden, sterben und trocknen ein. Die Krankheit macht die Tiere faul, so daß sie auch nach der Gefäßreinigung zu den beliebten Wanderungen nicht anzuregen sind. Nachträglich können die Tiere auch verschimmeln. Wir haben ferner eine eigentliche Pilzkrankheit, die in folgender Weise auftritt. Entweder werden die Milben von Pilzen befallen, sobald die Substanz nur ganz wenig verschimmelt ist und Pilzhyphen in ihr sich eben nachweisen lassen, oder es verschimmeln gleichzeitig die Milben und ihre Nahrung. In beiden Fällen wird die Bewegung der Milben auffallend verlangsamt und überall, wo mit dem Tode ringende Milben an den Wänden sich festsetzen, treten auf ihnen Pilzvegetationen und -fruktifikationen auf. Das Hyphengewirr ist auch im Innern des Körpers zu verfolgen, während äußerlich und etwa auch im Innern an verschimmelten Tieren in der Nähe der Analöffnung Kristalle oder Sphärokristalle von Kalkoxalat zu bemerken sind. Es wachsen die Pilze nicht nur an Milben, welche an den Gefäßwänden kleben blieben, sondern auch an denjenigen, die in der Substanz sich verkrochen, an den Kotballen, Larven und Haarbälgen.

Folgende Pilze konnten aus toten Milben, ihren Eiern und Larven reinkultiviert werden: *Rhizopus nigricans*, *Penicillium glaucum* = *P. crustaceum* L., *Acrostalagmus cinnabarinus* Corda, Konidien eines *Botrytis*-ähnlichen Pilzes, *Aspergillus glaucus* L., *Aspergillus nigricans* = *A. niger* van Tiegh., *Aspergillus fumigatus* Fresen, *Aspergillus flavus* Link (?), der auf mehligem Nährboden hellgelbe Rasen bildete, die später blendend weiße Farbe annahmen, ferner eine weitere unbestimmte Art der Gattung

*Aspergillus*, die graue Ueberzüge bildete, welche nach einiger Zeit dunkelbraun wurden. Die zuerst aufgeführten Pilze, *Aspergillus glaucus* eingeschlossen, sind nicht pathogen für höhere Tiere. Die gegenteiligen Annahmen über die zuletzt genannte Art sind mit Vorsicht aufzunehmen<sup>1)</sup>. Dagegen sind *Aspergillus niger*, *A. fumigatus* und *A. flavus*, von denen der letztere mit der Speciesbeschreibung in Rabenhorsts Kryptog.-Flora<sup>2)</sup> nicht ganz übereinstimmt, doch ganz sicher in den Formenkreis des *A. flavus* gehört, den pathogenen Arten der Gattung anzureihen.

Ob die Verschimmelung die primäre Krankheitsursache oder ob schon kranke Milben von Pilzen befallen werden, entzieht sich zur Zeit der Beurteilung. Was uns veranlassen kann, das erstere anzunehmen, ist die Schnelligkeit, mit der die Verschimmelung sich verbreitet, häufig ohne daß das Futtermittel selbst darunter stark litte. Es scheinen also die Milben sich in der Beziehung eines Vorzugs zu erfreuen.

Einige kurze Beschreibungen des Krankheitsverlaufs werden das Gesagte veranschaulichen. Es handelt sich um Fälle, die besonderer Beobachtung unterstellt waren.

Zunächst ein Beispiel für die mit starker Kotentleerung verbundene Erkrankung. Eine Kleie mit 16,6 Proz. Wasser mit dem *Glycyphagus* am 12. Mai 1904 infiziert, besaß Ende Mai sehr viele tote Milben und am 10. Juli 1904 waren die Wände von zahllosen Kotklumpen ganz schmierig. Fast alle Milben starben in dieser Zeit, ohne daß sie selbst oder die Substanz verschimmelt wären.

Eine Kleie, deren Wassergehalt unbestimmt blieb, wurde am 30. Mai 1905 mit zahlreichen Exemplaren des *Tarsonemus* infiziert. Am 15. Juni 1905 waren alle Milben tot, ohne daß Vermehrung stattgefunden hätte. Sie waren an den Glaswänden eingetrocknet, ohne Verschimmelung, welche erst viel später sich einstellte. Die gleiche Erscheinung wies die Kultur in einer Kleie auf, die 16,6 Proz. Wasser besaß, am 30. Mai 1905 mit *Glycyphagus* infiziert war und am 15. Juni 1905 nur tote Milben besaß, die gleiche Milbe, am 12. Mai 1905 in eine Kleie mit 16,6 Proz. eingesetzt, war nach 1 Monate vollständig ausgestorben, ohne Auftreten von Pilzen.

Eine Kleie von 15,25 Proz. Wassergehalt, die am 25. Mai 1905 mit *Tyroglyphus farinae* infiziert wurde, zeigte Ende Juni viele tote, von Pilzen befallene Exemplare; am 11. Juli 1905 waren alle Milben, von Pilzen überwuchert gestorben und wiesen sehr schöne Fruktifikationen von *Penicillium* und von verschiedenen *Aspergillus* auf, obgleich die Substanz selbst wohl Pilzfäden, aber keine Fruktifikationen besaß. Dagegen starben Milben der Gattung *Tyroglyphus* einer Probe Kleie mit gleichem Wassergehalte, am 30. Mai 1905 infiziert, nach 2 Wochen schnell dahin und Ende Juni bildeten die Pilze sowohl in der Substanz als auf Milben reichliche Fruktifikationen aus. Ein noch rascheres Eingehen erlitt *Tarsonemus*, der in eine Kleie mit 15,34 Proz. Wasser am 30. Mai 1905 versetzt wurde; diese Species war schon am 10. Juni 1905 vollständig verschimmelt und ausgestorben. Die Pilze ergriffen zunächst die Kleie, rückten dann in den oberen Teil des Glases vor, wobei, wie in anderen Fällen, die zahlreichen Kotklumpen zum Ansiede-

1) Vergl. die Monographie Wehmers: Die Pilzgattung *Aspergillus* (Mém. Soc. phys. et nat. de Genève. T. XXXIII. 1901), woselbst auch die weitere Literatur.

2) Lindau, Fungi imperfecti. (Rabenhorsts Kryptog.-Flora. Bd. I. Abt. VIII. p. 129.)

lungsherd dienten. Die toten Milben im unteren Teile des Glases waren bald von Pilzfäden umspinnen, erst später wurden die im oberen Teile des Glases liegenden toten Milben befallen. Es war hier sehr deutlich sichtbar, daß die Infektion von der Substanz ausging. — Es geschieht zuweilen dennoch, daß der Feind einige Tierchen verschont. Dies kann belegt werden durch Kulturen in einem Leinkuchen, der 15,92 Proz. Wasser besaß, am 15. Juli 1903 mit Milben infiziert, nach ein paar Monaten vollständig verschimmelt war. Die in ihm lebhaft sich vermehrenden Exemplare des *Tarsonemus* und *Tyroglyphus* starben bald an der Pilzkrankheit. Aber am 14. Juli 1905, als das Kuchenmehl zu dicht verpilzten Klumpen geballt und auch die Gefäßwand von Pilzfäden ganz bewachsen war, lebte *Glycyphagus spinipes*, ohne zwar sich lebhaft zu vermehren, aber doch in etlichen. scheinbar durchaus gesunden Exemplaren weiter.

Das Milbensterben war so allgemein, daß manche Serien von Kulturen zu Grunde gingen, wie denn überhaupt die Pflege der Milben manchen Zufälligkeiten unterworfen ist. Manche Gläser mußten teils wegen Krankheiten der Milben, teils wegen zu geringer Fortpflanzung ausgeschaltet werden. Bei gleichem Wassergehalte desselben Futtermittels ergaben sich ganz regellose Unterschiede in der Vermehrung der drei kultivierten Arten. Manchmal wies die eine Milbe eine ganz kolossale Vermehrung auf, während die andere kaum zunahm.

Die Krankheiten waren besonders häufig im Maisschrot und in Mehlen aus Futterkuchen. Zwei solche infizierte ich mit kranken Milben, ohne neue Gesichtspunkte zur Aufklärung der Erkrankung zu gewinnen. Je 5 Gläser mit Leinkuchen- und Sesamkuchenmehl mit den Wassergehalten von 14,5 resp. 15,24 Proz., in denen *Tyroglyphus* und *Tarsonemus* sich ganz befriedigend vermehrten, wurden mit geringen Mengen einer Kleie, deren Insassen *Tyroglyphus* angehörten und unter den beschriebenen Merkmalen des Schmierigwerdens starben, wirksam infiziert. Die Milben der beiden Kuchen starben nach 2 Monaten aus, zum Teil unter gleichen Erscheinungen wie diejenigen des Infektionsmaterials, zum Teil aber durch überwuchernde Pilze.

Die Milben sind also einesteils Träger gewisser, für Tier und Menschen ungefährlicher Pilze, wie *Rhizopus*, *Penicillium* u. a. m., wobei es nicht ausgeschlossen ist, daß diese für die Milben selbst pathogen sein könnten, andererseits Träger sicher pathogener und für die Milben aller Wahrscheinlichkeit nach gefährlicher Arten der Gattung *Aspergillus*. Es ist hierbei nicht ausgeschlossen, daß die *Tyroglyphinae* vielleicht primär von anderen Krankheiten heimgesucht und geschwächt oder schon tot, von Pilzen, die in ihnen reiche Nahrung fanden, befallen wurden. Wie in analogen Fällen, ist die Entscheidung durch den Umstand erschwert, daß pilzfreie gesunde Tiere nicht zu beschaffen sind. Eine ähnliche Frage ist z. B. aufgetaucht beim Studium des Parasitismus der Arten der Gruppe der *Saprolegniae*<sup>1)</sup> auf Fischen und in vielen ähnlichen Fällen. Wenn auch eine Aufklärung der eigentlichen Krankheitsursachen von nicht geringem biologischen Interesse wäre, so kann ihr indessen für vorliegende Zwecke keine durchgreifende Bedeutung beigemessen werden, da auf jede Weise die Tatsache erhärtet ist, daß Milben und ihre leicht stäubenden Bälge pathogene Organismen führen. So erhöhen also die Milben die Gefährlichkeit der feuchten und verschimmelten Futtermittel, der pulverigen

1) *Flora*. Bd. LXXXII. 1896. p. 14.

Häcksel und Heureste (Heublumen), denen allenthalben ein berechtigtes Mißtrauen begegnet.

Nachdem auf die Möglichkeit der Entstehung von Mykosen durch Vermittlung der pilztragenden Milben hingewiesen worden, müssen einige Daten aus Praxis und Wissenschaft Erwähnung finden, welche ganz allgemein die durch Milben der Familie der Tyroglyphinae verursachte Krankheiten betreffen. Denn während die meisten der zitierten Forscher, wie die beiden, Canestrini, Kramer und Canestrini u. a. m., ferner Armanelli<sup>1)</sup> bis vor kurzem den Tyroglyphinae übereinstimmend eine ausschließlich saprophytische Lebensweise zuschrieben, mehren sich die Anzeichen dafür, daß einige Arten derselben lebende Tiere und Pflanzen gefährden können. Aber hier befinden wir uns in der eigentümlichen Lage, vor ein neues Problem gestellt zu werden. Wie die parasitäre Natur der Pilze auf Tyroglyphinen der strengeren experimentellen Beweisführung sich entzog, so auch die Frage nach dem Parasitismus der Tyroglyphinen selbst in seinem weitesten Sinne. Die Frage kehrt also wieder in ungleich größerer Kompliziertheit: sind die Milben Parasiten oder sind die Tiere und Pflanzen, durch anderweitige Krankheiten geschwächt, ihren Angriffen zugänglich gemacht worden. In den folgenden Literaturangaben lag die Eigenschaft der Milben, Pilzträger zu sein, da sie bisher unbekannt war, außer Diskussion.

Eisermann<sup>2)</sup>, der über große praktische Erfahrung verfügt, vertritt die Ansicht, daß Futtermittel, die mit Milben besetzt sind, nur in gedämpftem und gekochtem Zustande zu verwenden sind, weil sie sonst bei den damit gefütterten Tieren Verdauungsstörungen, auch Hautauschläge hervorrufen. Lindner<sup>3)</sup> berichtet in einer kurzen Mitteilung „Lästige Hauterkrankungen bei Gersteablieferungen“, daß alle Arbeiter, die mit einer Gerste, welche Milben beherbergte, in andauernde Berührung kamen, erkrankten. Das Vereinsblatt der deutschen Müllerei, „Die Mühle“, Leipzig, brachte 1903 oder 1904 eine Einsendung aus der Praxis, derzufolge durch Berührung mit milbenreichen Mahlabfällen (so viel mir erinnerlich von Kleie) Hauterkrankungen auftraten. Gutachten namhafter Tierärzte äußern sich dahin, daß Milben, sowie ihre Bälge und Kotballen leicht in die Luftwege der mit milbenverseuchtem Futter ernährten Tiere eindringen und dort Entzündungen veranlassen. In der zitierten Broschüre über die Milbenplage etc. p. 6 beschreibt Ludwig ausführlich Krankheitserscheinungen einer ganzen Familie, in deren Wohnung Milben in kolossalen Mengen lebten; von ärztlicher Seite wurde vermutet, daß sie Milben (Tyroglyphinae) durch äußere Berührung oder durch Einführung in das Körperinnere verursachten. — Wenn auch in allen diesen Vorkommnissen objektiv gültige Befunde über Milben nicht beigebracht wurden, so ist doch aus diesen, zum großen Teil von gewissenhaften Beobachtern gemachten Erfahrungen ersichtlich, daß unzweifelhaft ein Zusammenhang zwischen der Milbengegenwart und Erkrankung besteht. In allen diesen Fällen ist die Mitwirkung von Pilzen, die von Milben geführt wurden, nicht ausgeschlossen.

Wissenschaftlich wertvoller war ein Beitrag zur Kenntnis des eigentlichen Parasitismus, den E. L. Trouessart<sup>4)</sup> gebracht hatte. Die

1) Armanelli, Acari del fieno della Provincia di Padova. Cefalu 1887.

2) Getreide und Hülsenfrüchte etc. Bd. II. Berlin 1895. p. 412.

3) Wochenschr. f. Brauerei. 1903. p. 548.

4) Trouessart, Endoparasitisme accidentel chez l'homme d'une espèce de Sarcophages détriticoles. (Archives de Parasitol. T. V. 1902. p. 449.)



teilweise ganz lehrreiche ältere Literatur gibt dieser Forscher an. Eine der Studien behandelt z. B. den Fund des Tyroglyphus siro L. in der Lymphe eines Kranken u. dergl. m. Das Eindringen der Tyroglyphinae in innere Organe ist von verschiedener Seite erwähnt worden. Die Mehrzahl solcher Beobachtungen fußt indessen nach dem Urteile Trouessarts auf ungenügender Kenntnis der Acarinae, ihrer Gewohnheiten und Organisation, und in keinem Falle haben die Verfasser sich bemüht, die Art der Infektion der inneren Organe durch die Milben zu erforschen. Trouessart selbst fand in der Flüssigkeit aus einer 6 Jahre alten Geschwulst ca. 900 junge und alte Exemplare einer echten Tyroglyphinae, *Histiogaster spermaticus* n. sp. Nach gütiger brieflicher Mitteilung des Forschers ergab eine spätere Vergleichung der Milbe mit *Histiogaster entomophagus* Laboulbène, daß die vorliegende Form eine Subspecies ist: *H. entomophagus* subsp. *spermaticus*. Er vermutet, daß bei einem früheren Eingriff mittels einer Sonde ein weibliches Tier in die Geschwulst gelangte und zur Entstehung der großen Kolonie führte. Der Fall ist sehr gut studiert, der Kranke war Arzt, jeder Irrtum ist hier völlig ausgeschlossen; er liefert den Beweis für die Möglichkeit der endoparasitischen Lebensweise (*faux parasitisme*, *parasitisme accidentel*) der Tyroglyphinae und zeigt zugleich, mit welcher großen Leichtigkeit diese Familie der Milben den verschiedensten Wohngelegenheiten sich anbequemt. (Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Die Milbenkrankheit der Reben (Verzwergung, Court-noué, Kräuselkrankheit etc.).

Von H. Müller-Thurgau, Wädenswil.

Mit 2 Abbildungen.

Seit dem Jahre 1901 machte sich bei Tüscherz am Bielersee und auf der Petersinsel eine merkwürdige Rebenkrankheit bemerkbar, die in den folgenden Jahren auch in der welschen Schweiz auftrat, und dort als Court-noué bezeichnet wurde. Da die Erscheinung im Jahre 1903 am Bielersee eine bedenkliche Ausdehnung annahm, wurde ich durch Herrn Schwab, Präsident der Rebgesellschaft Twann-Ligerz-Tüscherz, ersucht, die bisher unbekannte Ursache zu erforschen und, wenn möglich, Gegenmittel zu bezeichnen. An dem vom Bielersee, sowie aus dem Waadtlande, wo die Krankheit ebenfalls stark auftrat, eingeschickten Material konnte nun der Nachweis erbracht werden, daß sie durch eine Blattmilbe, *Eriophyes* (*Phytoptus*) verursacht wird. Dieses Resultat wurde dann in verschiedenen Zeitungen und auch im Jahresbericht der genannten Rebgesellschaft für 1903 (p. 9) mitgeteilt. Die im Jahre 1904 weiter ausgedehnten Untersuchungen bestätigten das Resultat, und es fand eine vorläufige Veröffentlichung desselben in der *Chronique agricole du canton de Vaud*, Juni 1904. p. 377 statt. Eine kurze weitere Mitteilung wurde im Mai 1905 an die schweizerischen landwirtschaftlichen Zeitschriften etc. versandt, vergl. z. B. *Schweiz. Zeitschrift für Obst- und Weinbau* 1905. p. 171, während eine Zusammenstellung der Versuchsergebnisse im Berichte der Schweizerischen Versuchsanstalt für 1903 und 1904. p. 15 (im landw. Jahrbuch der Schweiz. 1905. p. 575) erschien.

Die Krankheit zeigt nicht immer die gleiche Erscheinungsform; am häufigsten tritt sie in folgender Weise auf. An sämtlichen oder doch

an den meisten Trieben eines Stockes beobachtet man schon beim Austritt aus den Knospen eine auffällig gehemmte Entwicklung. Wenn gesunde Triebe schon einige Dezimeter lang sind, haben die erkrankten nur wenige Centimeter Länge. Auch weiterhin bleibt das Wachstum geschwächt. Solche Triebe sind auffallend dünn, die Glieder kurz, im ausgewachsenen Zustande meist nur 1—1½ cm lang, die Knoten also nahe beieinander, wie in Abbildung 1 die drei links stehenden Triebe zeigen. Auch die Blätter erlangen nur eine kümmerliche Ausbildung; die gewöhn-

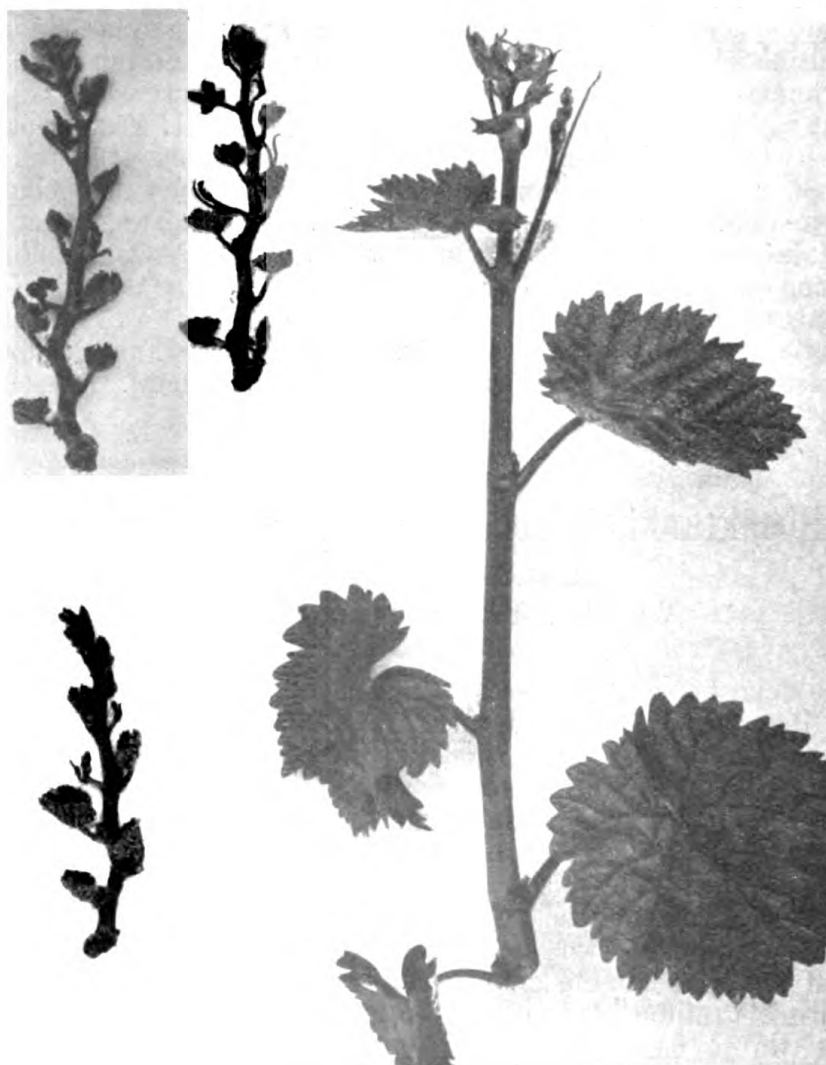


Abbildung 1. Drei verzweigte Triebe; daneben ein gesunder, der aber etwa 14 Tage später austrieb, also um so viel jünger ist. (Etwa ½ der nat. Größe.)

lich nach oben zusammengefaltete, nur schwach grüne Blattspreite erreicht oft nur eine Gesamtbreite von 1—2 cm. Die Blattrippen vermögen gewissermaßen nicht die Spreite auszuspannen; das Blättchen steht als kleines krauses Löffelchen schräg aufwärts am Schosse und fällt bei leichter Berührung ab. Auch die Blütenträubchen bleiben ganz verkümmert, die einzelnen Blüten unentwickelt; frühzeitig sterben oft diese

nur  $\frac{1}{2}$ —1 cm langen oder nur wenig größeren Gescheine ab. Diese Erscheinungsform veranlaßte mich, die Krankheit als Verzwegung der Rebentriebe zu bezeichnen. Häufig zeigen alle anfänglich austreibenden Schosse dieses Aussehen; seltener finden sich Reben, bei denen zwischen kranken auch vereinzelte gesunde Triebe stehen. Verschieden ist das weitere Schicksal der erkrankten Triebe: Manche sterben vollständig ab, und die Rebe entwickelt in diesem Falle, zumal wenn alle Triebe sich so verhalten, aus Adventivknospen neue Triebe, die dann ganz regelmäßig ein kräftiges Wachstum zeigen und von der Milbenkrankheit nicht ergriffen werden. Bei manchen verzwegten Trieben stirbt dagegen nur die Spitze ab, und es treiben eine oder mehrere direkt unter ihr stehende Geizen (Beischosse) zu normalen Schossen aus, während bei anderen die Triebspitze lebend bleibt und von einem gewissen Zeitpunkt an normale Stengelglieder und Blätter bildet (Abbildung 2). In diesen letzteren zwei Fällen bleiben die erkrankten Triebteile (oft 8 und mehr Internodien) am Leben. Zwar vermögen sie sich nicht mehr zu strecken, aber sie wachsen in die Dicke, was ja auch notwendig ist, um den oberen gesund weiter wachsenden, mit normalen Blättern besetzten Triebteil zu tragen und genügend mit Wasser und Nährstoffen zu versehen. Oberflächlich betrachtet, sehen solche Schosse dann normal aus; bei genauerem Zusehen bemerkt man aber, daß die unteren 6—10 Knoten auffallend nahe stehen und weder Blätter noch Trauben tragen. Namentlich das ausgereifte Holz im Winter bietet dann ganz die Erscheinung, die in Frankreich als Court-noué beschrieben wird und z. B. in der *Revue de viticulture* 1900. Bd. XIV. auf einer kolorierten Tafel dargestellt ist.

Wie nicht anders zu erwarten, bergen die Knospen an diesem kurzgliedrigen Triebteil keine Blütenanlagen; denn sie standen ja nicht in der Achsel assimilierender Blätter. Wollte man solche Schosse als Tragholz, z. B. als Zapfen auf wenige Augen zurückschneiden, so erhielte man daher auch im folgenden Jahre keine Trauben.

Nicht immer zeigen die von der Milbenkrankheit befallenen Triebe das oben beschriebene Aussehen. Aus Hallau im Kanton Schaffhausen, vom Ottenberg im Kanton Thurgau und vom rechten Zürichseeufer wurden z. B. neben typisch verzwegten Schossen auch solche eingeschickt, die eine mildere Form der Erkrankung aufwiesen. Vielleicht waren die Milben hier weniger zahlreich, der Eingriff weniger intensiv, oder eine größere Triebkraft der Stöcke bewirkte ein energischeres Wachstum der jungen Schößchen und wirkte so gewissermaßen dem Eingriff der Milben entgegen. Die Stengelglieder waren zwar ebenfalls kurz,



Abbildung 2. Ein Trieb, der erkrankt war und nun im oberen Teil allmählich in gesunden Zustand übergeht. Die erkrankten unteren Triebteile bleiben kurz, Blätter und Blüten sind abgefallen. (Etwa  $\frac{2}{5}$  der nat. Größe.)

aber doch meist 2—3 cm lang und von Anfang an dicker; besonders waren aber die Blätter nicht in so hohem Grade verkümmert und lebhafter grün gefärbt als bei den stark erkrankten. Statt nach oben, waren sie glockenförmig nach unten gekrümmt und stark gekräuselt, wohl weil die Blattnerven, die von den Milben sichtlich stärker als die Blattfläche heimgesucht waren, im Wachstum mehr zurückblieben und so diese gewissermaßen zusammenzogen. Selbst wenn an solchen Schossen die Blätter  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{8}$  der normalen Breite erreichten, waren die von Milben besonders heimgesuchten Blütenanlagen stark verkümmert; sie lieferten keine Trauben.

Einen interessanten Ausnahmefall bildeten Rebenschosse, die der Versuchsanstalt im Jahre 1903 aus dem zürcherischen Weinlande zuzugingen. Dort waren auf einem größeren Areal die Schosse zuerst normal, brachten 5 und mehr ausgebildete Blätter, und erst der weiter oben befindliche Teil zeigte die Erscheinung der Verzweigung, die, wie leicht nachgewiesen werden konnte, ebenfalls durch die gleichen Milben verursacht worden war.

Die Ursache der hier beschriebenen Rebenkrankheit war bisher unbekannt. In Frankreich glaubte man eine schon lange als Court-noué bezeichnete Erscheinung, die wahrscheinlich mit der unseren übereinstimmt, der Einwirkung von Bakterien zuschreiben zu sollen. Wie bereits erwähnt, konnte ich schon im Jahre 1903 mitteilen, daß eine Blattmilbe, *Eriophyes* (*Phytoptus*), die am Bielersee auftretende, dort als Kräuselkrankheit, im Waadtlande als Court-noué bezeichnete Krankheit verursacht. Eine hiervon abweichende Ansicht machte H. Faes in der *Chronique agricole du canton de Vaud* 1904 p. 336 geltend. Er schrieb: „Wir selbst, nach dem, was wir konstatierten, wären vielmehr mit den Weinbauern einverstanden, welche die Ursache des Court-noué in dem Kälterückfall suchen, der die im Austriebe befindliche Rebe überraschte. Die Böden erwärmen sich verschieden und verlieren auch mehr oder weniger schnell ihre Wärme; daher das Erscheinen des Court-noué in den Böden, wo die nächtliche Strahlung am stärksten ist, aus dem einen oder anderen Grunde, wie windige Lage, Anwesenheit von Grundwasser, Beschaffenheit des Bodens selbst. Mehrere Tatsachen unterstützen diese Meinung. Zunächst sind es die zuerst austreibenden Reben, d. h. die dem Kälterückschlag meist ausgesetzten, welche ergriffen werden, namentlich gewisse veredelte Stöcke, die frühzeitig aus der Wolle treten.“

In der folgenden Nummer der gleichen Zeitschrift (p. 377) legte ich das Ergebnis meiner Untersuchung nochmals dar und schrieb u. a.: „Die Untersuchung ergab nun, daß auf den Blättern sämtlicher erkrankter Triebe eine Milbenart in großer Zahl sich vorfand, während auf gesunden, der nächsten Umgebung entnommenen Trieben diese Tiere nicht vorkamen. Auf den verhältnismäßig kleinen Blättchen fanden sich öfters 100—200 Milben in verschiedener Entwicklung nebst einer großen Zahl von Eiern. Nach den Größeverhältnissen, der Beschaffenheit der zwei Beinpaare, den Borsten etc. stimmt die Milbe mit der gewöhnlichen Weinblattmilbe, *Eriophyes* (*Phytoptus*) *vitis* überein. Daß durch die saugende Tätigkeit so zahlreicher Schmarotzer das Wachstum der jungen Triebe und Blätter ganz bedeutend gehemmt werden muß, ist begreiflich. Man muß eben berücksichtigen, daß die Milben schon sehr früh eingreifen, wenn die Blättchen noch in der Knospe stecken oder gerade hervortreten. Die zarten Organe sind zu dieser Zeit sehr empfindlich.

Wie die mikroskopische Untersuchung zeigt, verursachen die Milben das Absterben von Tausenden von Zellen. Dicht gedrängt sind auf diesen jungen Organen die abgestorbenen Zellpartieen. Der Nahrungsentzug durch die Milben, der direkte nachteilige Einfluß der vielen Wunden und die gesteigerte Transpiration derartig verletzter Organe muß unbedingt deren Wachstum beeinträchtigen. Darum bleiben die Stengelglieder so kurz und die Blätter so klein.“

In einer neueren Veröffentlichung<sup>1)</sup> bestätigt H. Faes dieses Untersuchungsergebnis, indem er als Erreger der Krankheit nun ebenfalls die Blattmilbe bezeichnet. — Die von ihm früher erwähnte Ansicht, daß die eigenartige Verkümmern der Rebentriebe mit ungünstiger kalter Witterung, Kälterückfällen im Frühjahr u. s. w. im Zusammenhange stehen, läßt sich mit dem Nachweis, daß eine Milbenart die eigentliche Ursache ist, wohl vereinbaren; denn infolge niedriger Temperatur oder sonst ungünstiger Umstände weniger gut ernährte und langsamer wachsende Organe leiden unter derartigen Eingriffen mehr als kräftig sich entwickelnde; sie sind nicht allein weniger widerstandsfähig, sondern es dauert auch jedes Entwicklungsstadium länger, und es kann daher der schädliche Einfluß während einer längeren Zeit einwirken. Tritt dann günstigere, namentlich wärmere Witterung ein, wodurch einerseits Wachstum und Ernährung der Triebe mit organischen Stoffen gefördert werden und andererseits durch schnellere Entwicklung junger Wurzeln die Triebkraft der Rebe erhöht wird, so werden die noch lebensfähigen Triebspitzen widerstandsfähiger und können durch schnelle Entwicklung den Angriffen der Milben entweichen.

Begreiflich ist, daß Störungen des Wachstums durch andauernd kalte Witterung selbst im Sommer eine schädliche Einwirkung von Blattmilben an der Triebspitze das Zustandekommen einer Verzweigung ermöglichen, wie der erwähnte Ausnahmefall zeigt.

Stimmt auch das die Milbenkrankheit verursachende Tier in der Gestalt mit der gewöhnlichen Weinblattmilbe, *Eriophyes* (*Phytoptus*) *vitis* überein, so ist doch die Einwirkung auf die befallenen Rebenteile eine ganz andere, indem diese letztere in der Regel keine Verzweigung der Triebe und Blätter verursacht, wohl aber die Bildung jener bekannten warzenförmigen, auf der Unterseite mit einem weißen oder gelblichen Haarfilz besetzten Gallen, eine Erscheinung, die man auch als Erinose bezeichnet. Ob man es hier nur mit verschiedenen Lebensformen desselben Tieres oder aber mit zwei verschiedenen Arten zu tun hat, müssen weitere Forschungen zeigen. Dr. A. Nalepa in Wien, ein vorzüglicher Kenner der Blattmilben, dem ich Material zuschickte, ist letzterer Ansicht. Er beschreibt das Tier als *Phyllocoptes vitis* n. sp.<sup>2)</sup>.

H. Faes in seiner schon angeführten Arbeit spricht sich dahin aus, daß es die gleichen Milben seien, die das beschriebene Zwergwachstum der Rebentriebe und andererseits die Erinose verursachen. Er glaubt auch noch eine dritte Krankheitserscheinung ihrer saugenden Tätigkeit zuschreiben zu können, nämlich eine im Sommer auftretende Bräunung (*brunissure*) der Rebenblätter. Gerade an den Reben, deren Zweige im Frühjahr stark an der Milbenkrankheit litten, trat im Sommer

1) *Acariose. Chronique agricole du canton de Vaud. 1905 und Progrès agricole et viticole. Montpellier 1905.* (Sonderabdruck.)

2) Nalepa, A., Neue Gallmilben. 27. Fortsetzung. (Sitzung der math.-naturwiss. Klasse der Kais. Akad. der Wissensch. in Wien, vom 23. Juni 1905.)

die Blattbräune (Acariose) auf. Auf den Blättern waren die gleichen Milben wie dort in großer Zahl anzutreffen.

Auf den verzweigten Rebenschossen fand H. Faes im Frühjahr neben den gewöhnlichen mit zwei Beinpaaren versehenen Blattmilben schneller bewegliche Milben mit vier Beinpaaren, *Tetranychus*, die er als die vollkommenere Form der Blattmilben betrachtet. Da nun *Donnadieu* schon früher die Milben der Erinose als Larvenform eines *Tetranychus* bezeichnet, so wäre nach Faes hierin ein weiterer Beweis für die Uebereinstimmung der die Verzweigung und die Erinose verursachenden Milben gegeben. Nach seiner Anschauung überwintern die meisten Milben als Larven mit zwei Beinpaaren. Bei einzelnen dagegen zieht sich der Inhalt von der Haut zurück und umgibt sich mit einer besonderen Hülle, aus der dann im Frühjahr eine mehr rundliche Milbe mit drei Beinpaaren hervorgeht, die sich bald in die vollendete geschlechtsreife Form mit vier Beinpaaren verwandelt. Die von diesen Milben geschlechtlich erzeugten Eier werden an die jungen Blättchen gelegt, und die daraus hervorgehenden Larven erzeugen die Erinose. Die Mehrzahl der überwinternden Milben behält dagegen im Frühjahr noch während einiger Zeit die Larvenform und erzeugt die als Verzweigung, Court-noué etc. bezeichnete eigentliche Milbenkrankheit, um sich erst später in die vollkommene achtfüßige Form umzuwandeln. Auch aus den Eiern dieser Geschlechtstiere gehen Larven hervor, die an jungen Blättern Erinose verursachen. Warum die aus geschlechtlich erzeugten Eiern entstehenden Larven Erinose erzeugen, die durch Generationen hindurch ungeschlechtlich oder parthenogenetisch sich vermehrenden Larven dagegen jene eigenartige Gallenbildung nicht zu verursachen vermögen, wohl aber die Verzweigung (Court-noué) und die Blattbräune, wäre, wie auch Faes zugibt, noch zu ergründen. Andererseits bedarf aber meines Erachtens die Zusammengehörigkeit der die verschiedenen Krankheitserscheinungen verursachenden vierfüßigen Milben unter sich und andererseits mit den achtfüßigen Tieren (*Tetranychus*) eines genaueren Beweises.

So lange man die Ursache der beschriebenen Krankheit nicht kannte, war eine zielbewußte Bekämpfung ausgeschlossen. Erst durch unseren Nachweis, daß es sich um einen tierischen Feind, und zwar um eine Blattmilbe handelt, ist man in den Stand gesetzt, den Kampf mit Aussicht auf Erfolg aufzunehmen. Zwei Wege sind gegeben: Einerseits wird man an den erkrankten Stöcken während der Vegetationsperiode die Milben an Trieben und Blättern nach Möglichkeit vernichten und so die Besiedelung der Knospen durch die Milben im Herbst verhindern oder doch einschränken; andererseits kann man versuchen, die Milben in ihrem Winteraufenthalt zu bekämpfen. Bei letzterer, der sogenannten Winterbehandlung, wird man beim Schnitt das abfallende Rebholz sammeln und aus dem Weinberge entfernen, die stehenbleibenden Teile der Rebe gründlich mit insektentötenden Flüssigkeiten benetzen, wie mit gesättigter Lösung von Eisenvitriol, 5-proz. Lösung von Kupfervitriol, Schmierseife mit Tabakauszug, 2-proz. Lysollösung und dergleichen. Manche unter Rindenschuppen sitzende Milbe wird man so nebst anderen Feinden vernichten; allein gerade die in den Knospen überwinternden Exemplare werden größtenteils verschont bleiben. Die eine oder andere Lösung kann aber noch dadurch günstig wirken, daß sie das Austreiben der Knospen im Frühjahr etwas verzögert, worauf dieses dann um so energischer von statten geht. Von flüchtigen Insektiziden, wie Schwefel-



kohlenstoff, schweflige Säure, könnte man eher ein Eindringen zu den zwischen den Knospenschuppen verborgenen Tieren erwarten, doch sind nach unseren Versuchen die zarten Triebe und Blättchen gegen Schwefelkohlenstoff fast ebenso empfindlich, wie die Milben. Faes gibt an, mit 4-proz. Lysollösung und ebenso mit einer Lösung von 3 Proz. Schmierseife und  $\frac{1}{2}$ —1 Proz. Karbolsäure gute Erfolge erzielt zu haben.

Findet man im Frühjahr trotz der Winterbehandlung verzweigte Schosse, so bricht man sie am besten aus und vernichtet sie. Sie sind ja doch unfruchtbar und eignen sich auch nicht als Zuchtholz für das folgende Jahr, man entfernt aber damit die weitaus größte Zahl der vorhandenen Milben. Nach dem Ausbrechen dieser erkrankten Triebe werden die am Stocke etwa noch vorhandenen gesunden oder dann die bald neu austreibenden Schosse nur um so besser sich entwickeln. Sie sind, wie die Beobachtung zeigt, in der Regel nicht von Milben befallen <sup>1)</sup>. Dieses frühzeitige Entfernen der verzweigten Schosse ist wohl das beste Mittel, die allgemeine Infektion der Rebe während des Sommers und die weitere Ausbreitung des Tieres auf andere Stöcke zu verhindern. Hat man dies versäumt oder will man ein weiteres tun, so kann man die beblätterte Rebe behandeln: Da empfiehlt sich in südlichen Gegenden ein häufiges Bestäuben mit fein gemahlenem Schwefel, das dort bekanntlich auch gegen die Erinose gute Dienste leistet. In kühleren Gegenden mit öfterem Regen ist der Schwefel dagegen weniger wirksam. Da wird man eher Bespritzungen mit Insektengiften anwenden, Schmierseife mit Tabakauszug, Quassiabrühe und dergleichen. Man darf sich aber nicht verhehlen, daß diese Mittel meist nur an der oberen Blattseite haften und daher ein Ausrotten der Tiere kaum zu erhoffen ist; immerhin kann schon ein Dezimieren von Nutzen sein, indem dann doch die Knospen und etwaige sonstige Schlupfwinkel weniger stark von überwinternden Milben besetzt werden.

Schweiz. Versuchsanstalt in Wädenswil, Oktober 1905.

*Nachdruck verboten.*

## On the action of formaldehyd in the preservation of milk.

[From the Laboratory of the State Board of Health of Delaware, U. S. A.]

By **Frederick D. Chester** and **Thomas R. Brown.**

With 3 figures.

The object of these experiments was to determine the number of bacteria present in milk samples at various intervals of time after formalin had been added in various proportions.

From a concentrated formalin, in which the percentage of formaldehyd was determined by the thiosulphate-starch-iodine titration method, a ten per cent solution was prepared. This was used, throughout the work, and such quantities added to the milk as to give definite amounts of formaldehyd.

The milk was obtained from two local dairies. Morning's milk was invariably collected and brought to the laboratory a few hours after milking.

1) Vergl. auch Revue de viticulture. T. IX. 1898. p. 164.

A determination was at once made of the number of bacteria in the raw milk, and then formalin was added in various proportions. The treated samples were kept in sterile four ounce bottles, tightly corked, and held at approximately 25° C until curdled.

Counts were made of the number of bacteria present in the treated samples at different intervals.

Agar was used for plating composed of:

Witte's pepton	10 g
Liebig's extract of beef	10 "
Agar	15 "
Water	1 litre

The reaction of the medium was approximately 5.0 of Fuller's scale.

Four to six plates were poured for each determination, and the average number of colonies taken.

Several dilutions of the milk with sterile water were often made in the effort to obtain the proper number of colonies on a plate. This has been an embarrassing part of the work, especially at first, when the number present was an unpresupposable quantity, and yet it is quite necessary that the dilution shall be so adjusted that the number of colonies shall come within certain limits. The presence of only a few colonies on a plate is liable to give high results, while the presence of too many, a thousand or more, is quite certain to give too low figures.

For the best results, and for those that are comparable, plates for different determinations should show numbers of colonies which do not range more than 50 above or below 100, i. e., from 50 to 150.

Special precautions were taken to insure the absolute sterility of plates, dilution-water, pipettes and media. The sterility of media was insured either by its age after tubing, or when fresh by preliminary incubation at 37° C. The plates were resterilized daily. The pipettes were sterilized immediately before use. The 100 ccm graduated flasks of sterilized water were daily resterilized in an autoclave for one-half an hour at 10 pounds pressure.

The milk dilutions, one cubic centimeter, were distributed over the bottoms of the Petri dishes and the melted agar added and mixed. This gave a satisfactory distribution of colonies and insured no loss of the milk material.

The plates were incubated for 2 days at 25° C, at the end of which time the first count of colonies was made, and again another on the third day.

The maximum number of colonies was taken as a measure of the bacteria present.

Theoretically 4 or even 5 days would have given more accurate results than 3 days, but practically the extension of the incubation period to 4 and 5 days was often impossible owing to the formation of spreaders in plates from certain samples, hence for uniformity of procedure the shorter period of incubation had to be resorted to.

The period of incubation has an important influence on the estimated number of bacteria. For raw milk or for young milk treated with small amounts of formaldehyd, in which the number of bacterial species was larger, there is a marked difference between the counts made from



2 day and 4 day plates, with little change on the sixth day, as shown in the following:

Sample No.	Age of sample	Proportion of formaldehyd	Ratio of colonies in 2, 4 and 6 days
4891	fresh	untreated	1,0: 4,37
4891	24 hours	1:20 000	1,0: 8,83
4892	fresh	untreated	1,0:11,20
4901	"	"	1,0: 2,12:2,62
4902	"	"	1,0: 2,23:2,45

In the case of older milk treated with formaline, in which the number of species present was limited to a few sometimes to one or two, there is no material difference between the second and the fourth day count as shown by the following examples.

Sample No.	Age of sample	Proportion of formaldehyd	Ratio of numbers in 2, 4 and 6 days
4891	5 days	1: 5,000	1,0:1,0
4891	13 "	1: 5,000	1,0:1,04
4891	5 "	1: 7,000	1,0:1,09
4891	5 "	1:10,000	1,0:1,0
4902	2 "	1: 5,000	1,0:1,28:1,85
4902	4 "	1:20,000	1,0:1,18:1,11

### 1. Quantitative results from the experiments.

Milk containing 1:800 of formaldehyd.

Sample 4854, 28 000 bacteria in raw milk. Showed a reduction of numbers to 7000 in the first 24 hours, to less than 100 at the end of 48 hours, to 20 at the end of 5 days. The only colonies which developed on the plates made on the fifth day were those of bacteria of the *B. subtilis* group, which occurred in the milk probably as resistant spores. The milk at the end of 5 days was therefore practically sterile, and remained unchanged until the sample was thrown out two months later.

Milk containing 1:1000 of formaldehyd.

Samples 4837 and 4839, 10 000 to 45 000 bacteria in raw milk. Results identical with the preceding, i. e., a rapid reduction in the numbers of bacteria present to 60—80 at the end of the fifth day. The species then present were of the *B. subtilis* group, probably spores. The milk was therefore practically sterile, and remained unchanged until the samples were discarded two months later.

Milk containing 1:2000 of formaldehyd.

Samples 4840, 4851, 4854. Initial numbers in raw milk 6400 to 28,000. This showed as before a rapid diminution of bacteria from the start, until at the end of the fourth to the sixth day only 20 to 60 were present in the samples. The milk was therefore practically sterile, and remained unchanged for two months.

Milk containing 1:5000 of formaldehyd.

Samples 4870 and 4872. Initial numbers in raw milk 9400 to 18 000. Showed during the first 24 hours a rapid reduction to 600

and 800 respectively, after which there was a very slow increase to 442 000 and 246 000 at the end of the fourth day. The milks curdled in 20 days indicating a very slow development of *Bact. acidilactici*.

Sample 4892 showed an initial number of 7500, with a reduction to 50 at the end of 24 hours, then a gradual increase to 1 240 000 by the end of 5 days. The sample curdled in 8 days.

Sample 4902 showed an initial number of 20 000, with a reduction to 900 at the end of 2 days, then a slow increase up to 4 000 000 at the end of 8 days, to 122 000 000 in 12 days.

Sample 4891 is interesting in showing the struggle for existence of the bacteria under the restraining action of the formaldehyd. The initial number was 8000, with a decrease to 25 at the end of 24 hours, then a very slow increase to 750 by the end of the third day, then a comparatively rapid increase to 4 300 000 by the fifth day, to 18 000 000 by the thirteenth day, then a decrease to 1 160 000 by the sixteenth, then another increase to 6 000 000 in the next 4 days. The milk curdled in 24 days showing a rapid increase of *Bact. acidilactici* between the twentieth and the twenty fourth day.

#### Milk containing 1:6000 of formaldehyd.

Samples 4870 and 4872. Initial numbers 9400 and 18 000. Showed as before a rapid decrease during the first 24 hours, then a slow increase up to 920 000 and 5 000 000 respectively at the end of 5 days. The samples curdled in 15 and 16 days.

#### Milk containing 1:7000 of formaldehyd.

Samples 4870, 4872, 4891, 4892. Initial numbers 9400, 18 000, 8000, 7500. Showed a slight decrease during the first 24 hours, then a slow but steady increase up to the time of curdling, which took place in from 10 to 11 days.

#### Milk containing 1:10000 of formaldehyd.

Samples 4848, 4863, 4865, 4872, 4891. Initial numbers 10 500, 8400, 19 000, 18 000, 8000. Showed a more or less marked decrease during the first 24 hours after which there was a slow but continued increase up to the time of curdling which occurred in from 6 to 13 days.

In samples 4870 and 4892 there was a very slow increase during the first 24 hours, then a marked increase after that date up to the time of curdling which took place in from 7 to 10 days.

The proportion of 1:10000 appears therefore to be the turning point when formaldehyd exerts a decided germicidal action in the early stages of the fermentation, the force of this action depending on the character of the initial bacterial flora.

#### Milk containing 1:20000 of formaldehyd.

Samples 4848 and 4865. Initial numbers 10 500 and 19 000. Showed a very slow increase during the first 24 hours, after which the numbers increased at a more rapid rate up to the time of curdling which occurred in from 2 to 5 days.

In samples 4891 and 4892, initial numbers 8000 and 7500, there was a very rapid increase during the first 24 hours when the samples contain 600 000 and 33 700 000 respectively, with 300 000 000

and 177000000 at the end of 48 hours. Both milks curdled a few hours after these counts were made.

Milk containing 1:40000 of formaldehyd.

Samples 4839, 4891 and 4892. Initial numbers 10000, 8000 and 7500. Showed a rapid increase from the start up to the time of curdling which took place in two and three days.

## 2. General conclusions on the preceding results.

In fig. 1, 2 and 3 are shown a number of typical curves, constructed from the data, which indicates at a glance the germicidal and antiseptic action of formaldehyd when used in milk in various proportions.

Curve A, fig. 1, shows the growth of bacteria during the first 14 hours in untreated milk, kept at 25° C. It will be noted that during the first four hours the number of bacteria remained nearly stationary; that from the fourth to the eighth hour there was a slow increase,

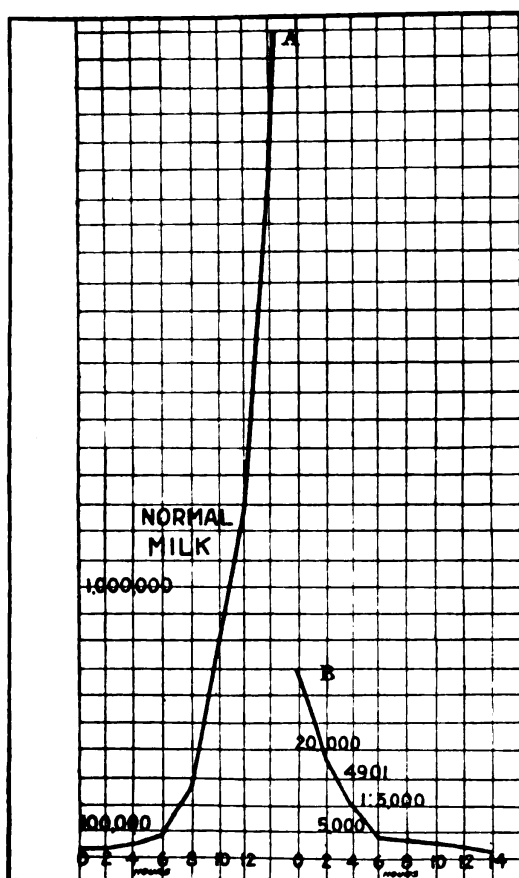


Fig. 1.

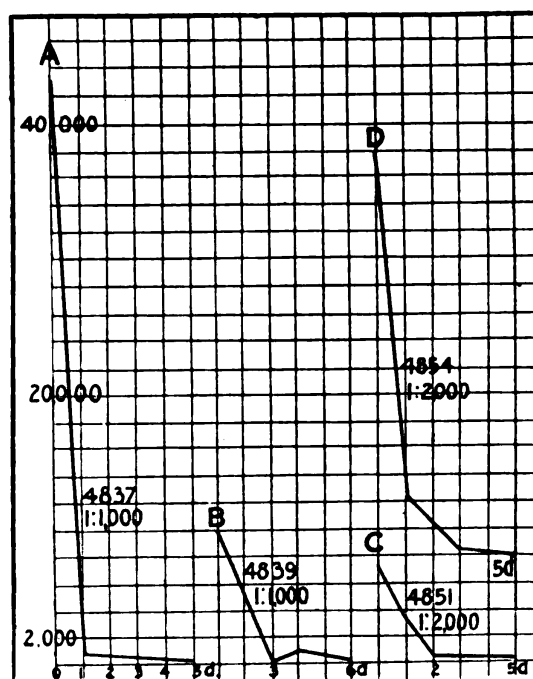


Fig. 2.

which became more rapid after the twelfth. The stationary condition during the first four hours is probably the result of the bactericidal action of the normal fluid. As this retarding force is suspended or overcome we note a gradual rise in the rate of increase as shown by the steepness of the curve.

In curve B, fig. 1, is shown the effect of 1:5000 of formaldehyd

in its action upon bacteria during the first 14 hours. Here we notice the most rapid decrease in numbers during the first 4 to 6 hours, then a much slower decrease up to 14 hours. This very rapid decrease is undoubtedly due to the germicidal action of the formaldehyd which exerts its main force within the first few hours.

► The curves in fig. 2 show the marked germicidal action of formaldehyd in proportions of one to 1000 to one to 2000. It is seen that this action is most marked during the first 24 hours, after which it proceeds more slowly until the milk is practically sterile.

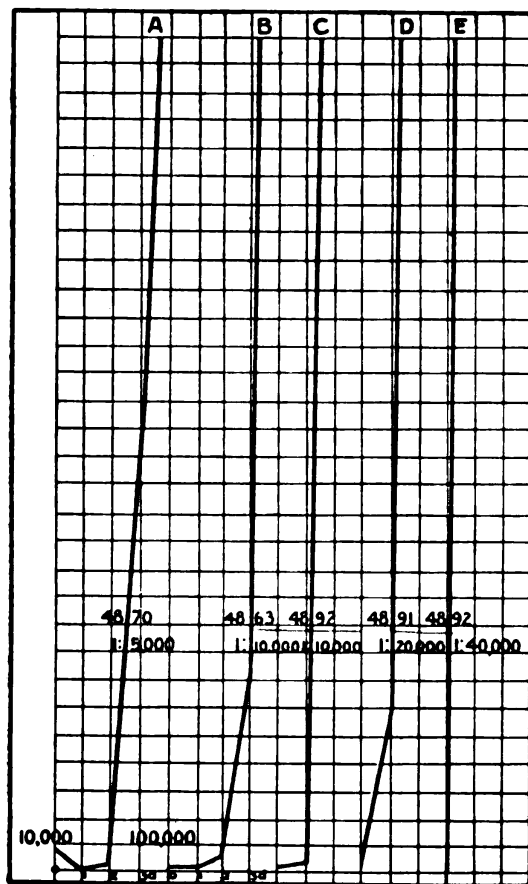


Fig. 3.

With one to 40000 of formaldehyd, curve *E*, fig. 3, the initial and later periods of increase were not differentiated but the rise of bacteria was rapid from the start.

#### Study of the character of the bacterial flora.

##### Found in milk containing formaldehyd.

The preceding results have reference only to numbers of bacteria in milk without regard to their kind. It is therefore important to know what species are able to develop in milk containing various proportions of formaldehyd. A consideration of the following will serve to throw some light on this side of the question.

##### Milk sample 4870.

Contained 1:7000 of formaldehyd. Kept at 25 C. The bacterial fluctuations were as follows:

Age of milk	Bacteria per ccm
0 (fresh)	9 400
24 hours	1 000
48 "	10 000
3 days	2 480 000
5 "	10 000 000

The milk curdled in 13 days. Plates made from the curdled milk showed but one type of colony, which proved to be *Bact. acidilactici* Grotenfeldt.

The experiment shows that *Bact. acidilactici*, the ordinary organism of sour milk, grows slowly in milk containing formaldehyd in the proportion of one to 7000, with the difference that while *Bact. acidilactici* will cause untreated milk to curdle in 24—28 hours at 25 C, it developed in this case much more slowly so that curdling did not take place until the end of the thirteenth day.

#### Milk sample 4891.

Containing 1:5000 of formaldehyd, kept at 25° C. The bacterial fluctuations were as follows:

Age of milk	Bacteria per ccm
0 (fresh)	8 000
24 hours	25
48 "	250
3 days	750
5 "	4 300 000
13 "	17 800 000
15 "	9 700 000
16 "	1 160 000
20 "	5 800 000

The milk curdled in 24 days. Plates made from this milk at the end of 5 days showed only one type of colony, that of a yeast, unidentified and designated Yeast A. It occurred in the milk at the rate of 4 300 000 per ccm, and was apparently the only species present. At the end of 14 days the yeast had decreased to 600 000 per ccm while *Bact. acidilactici* appeared at the rate of 2 500 000 per ccm. At the end of 20 days the yeast showed a slight increase to 1 300 000 per ccm, while *Bact. acidilactici* had increased to 4 700 000.

While these figures are not to be taken too exactly they at least show the general tendency of the fermentation, i. e., that in the early period the yeast held full sway and at the end of 5 days was the predominating form present. It however gradually gave way later in the game to the invulnerable *Bact. acidilactici*, which after 20 days continued to increase until it brought about the final curdling of the sample.

It should be noted that Yeast A is an innocuous organism, i. e., without effect on milk either to produce acid or to curdle it. The tolerance of yeast to the presence of formaldehyd has been noted in other cases.

To another portion of sample 4891 formalin was added at the rate of one to 7000 and kept at 25 C. The bacterial fluctuations were as follows:

Age of milk	Bacteria per ccm
0 (fresh)	8 000
24 hours	2 500
3 days	1 400 000
5 "	17 600 000

An analysis made at the end of the fifth day showed only Yeast A present. The sample curdled in 7 days so that the increase of *Bact. acidilactici* must have taken place between the fifth and the seventh day.

To a third portion of sample 4891 formalin was added in the proportion of one to 10000 and kept at 25 C. The bacterial fluctuations were as follows:

Age of milk	Bacteria per ccm
0 (fresh)	8 000
24 hours	2 500
48 "	95 000
3 days	1 300 000
5 "	69 000 000

Plates made at the end of 5 days showed

Yeast A	17 000 000 per ccm
<i>Bact. acidilactici</i>	52 000 000 " "

The milk curdled in 8 days due to the continued multiplication of *Bact. acidilactici*.

#### Milk sample 4902.

Contained 1:5000 of formaldehyd. Kept at 25 C. The bacterial fluctuations were as follows:

Age of milk	Bacteria per ccm
0 (fresh)	20 100
48 hours	900
4 days	946 000
7 "	1 600 000
8 "	4 000 000
12 "	122 500 000
13 "	420 000 000

Plates made at the end of the thirteenth day showed colonies all of one type, i. e., of *Bact. acidilactici*. The milk curdled on the fourteenth day.

#### Milk sample 4902.

Contained 1:10000 of formaldehyd. Kept at 25 C. The bacterial fluctuations were as follows:

Age of milk	Bacteria per ccm
0 (fresh)	20 000
48 hours	126 000
4 days	1 670 000
7 "	23 000 000
8 "	65 000 000

At the end of the eighth day the milk showed

<i>Bact. acidilactici</i>	49 000 000 per ccm
Yeast A	16 000 000 " "

The milk curdled in 10 days due to the continued multiplication of *Bact. acidilactici*.

The same samples to which one to 20000 of formaldehyd was added, and kept at 25 C showed the following bacterial fluctuations:

Age of milk	Bacteria per ccm
0 (fresh)	20 000
48 hours	4 200 000
4 days	22 000 000
8 "	120 000 000

At the end of 8 days the milk showed

Bact. acidi lactici	89 000 000 per ccm
Yeast A	29 000 000 „ „

### Milk sample 4792.

This sample showed the following initial bacterial flora:

B. alcaligenes Petruschky	3 000 per ccm
Bact. acidi lactici Grotenfeldt	53 000 „ „
M. pyogenes var. citreus Passet	2 000 „ „
	<hr/> 58 000 per ccm

Contained 1 : 5000 of formaldehyd. Kept at 25° C. The bacterial fluctuations were as follows:

Age of milk	Bacteria per ccm
0 (fresh)	58 000
24 hours	50
48 „	7 200
3 days	11 000
4 „	1 260 000
5 „	1 810 000

An analysis made at the end of both the fourth and the fifth days gave colonies of one type, i. e., a gas forming yeast, unidentified and designated Yeast B. Bact. acidi lactici was not present in any predominating numbers. The milk however curdled in 8 days so that Bact. acidi lactici must have made its growth between the fifth and the eighth day, which theory would be in accord with the previous facts, i. e., that the lactic acid fermentation is secondary to that of yeast.

It is important to note the complete disappearance or the negative development of B. alcaligenes and M. pyogenes citreus present in the original sample.

### Milk sample 4933.

The sample showed the following initial bacterial flora:

M. canescens Flügge-Winslow	400 per ccm
Bact. acidi lactici Grotenfeldt	200 „ „
M. pyogenes var. citreus Passet	100 „ „
B. alcaligenes Petruschky	4700 „ „
	<hr/> 5400 per ccm

Contained 1 : 5000 of formaldehyd. Kept at 25° C. The bacterial fluctuations were as follows:

Age of milk	Bacteria per ccm
0 (fresh)	5 400
24 hours	400
3 days	16 000
5 „	11 000
10 „	20 000 000
13 „	67 000 000

An analysis made at the end of the third day showed

Yeast A	15 300 per ccm
Bact. acidi lactici	700 „ „
	<hr/> 16 000 per ccm

Another analysis at the end of the tenth day showed that Bact. acidi lactici was the only organism present in any large numbers, the plates showing colonies of this one type.

The study of this sample is interesting in showing that out of the four predominating species present in the original milk only one of them i. e., *Bact. acidi lactici* continued to make any perceptable growth.

It would therefore appear that formaldehyd in proportions as high as one to 5000 is inhibitory to the development of all except a few forms of which one of the most important is *Bact. acidi lactici*.

#### Growth of bacteria in milk containing formaldehyd and kept at 10° C (50° F).

Milk sample 5126 contained formaldehyd 1:10 000. Kept at 10° C. Showed the following bacterial fluctuations:

Age of milk	Number of bacteria per ccm
0 (fresh)	410 000
3 days	1 400 000
6 "	76 000 000
9 "	108 000 000
12 "	590 000 000
13 "	coagulated

At the end of 6 days the milk contained

<i>B. alcaligenes</i> Petruschky	15 000 000 per ccm
<i>Bact. acidi lactici</i> Grotenfeldt	61 000 000 " "

At the end of 12 days *Bact. acidi lactici* was the predominating organisms with a few bacilli of the *B. coli* group.

The experiment is interesting in showing that when milk containing formaldehyd is kept at low temperatures the formaldehyd exerts relatively less antiseptic action than when kept at 25° C. This assumption however requires further proof.

The experiment also shows that such objectionable forms as *B. alcaligenes* and *B. coli* can develop in milk kept at low temperatures due undoubtedly to the slower growth of the lactic acid bacteria.

#### Summary.

The following is a summary of the results of the investigation.

1) With different milks containing the same quantities of formaldehyd the time of curdling varied within rather wide limits, dependent upon the character of the bacteria in the raw milk, and upon slight variations of temperature.

2) With different milks containing different quantities of formaldehyd the amount of formaldehyd present bears no exact relation to the time of curdling.

3) With milk containing one to 2000 up to one 800 of formaldehyd there was a rapid decrease of bacteria during the first 24 hours, after which there was a slow decrease, until by the end of five days the milk was practically sterile, or contained only resistant spores.

4) With milk containing one to 5000 of formaldehyd there was a rapid reduction of bacteria during the first four to six hours, but continuing throughout the entire twenty-four, after which the bacteria continued to multiply at first very slowly, then at a very rapid rate.

5) With milk containing one to 10000 of formaldehyd there was in some cases a slight reduction in numbers during the first 24 hours, followed by a very slow increase, then by a rapid increase. In others



there was a very slow increase from the start, followed by a very rapid increase.

6) With milk containing one to 20000 of formaldehyd there was a slow increase during the first 24 hours, followed by a rapid increase.

7) With milk containing one to 40000 of formaldehyd the initial and later periods of increase were not differentiated, but the rise of bacteria was rapid from the start, but much less rapid than in the case of untreated milk.

8) Milk containing one to 40000 of formaldehyd kept two to three times as long as untreated milk at the same temperature, and with one to 20000 four times as long.

9) When milk containing formaldehyd was kept at 25° C (78° F), there was a tendency on the part of the formaldehyd to restrain the development of the miscellaneous bacteria originally present in the raw milk, without a corresponding retardation of growth of the common lactic acid ferment (*Bact. acidilactici*).

10) *Bact. acidilactici* developed slowly in milk containing formaldehyd in proportions as high as one to 5000, proportions sufficient to kill or entirely check the growth of other milk organisms.

11) Certain species of yeast were capable of growing in milk containing considerable proportions of formaldehyd, the yeast appearing first, followed by the lactic acid fermentation.

12) Milk kept at 10° C (50° F), and containing formaldehyd in proportions as high as one to 10000 remained uncurdled for a long time but showed a large development of forms commonly found in raw milk.

13) The restraining action of formaldehyd was much less marked at refrigerating than at ordinary room temperatures.

14) With the presence of formaldehyd in milk kept at 25° C (78° F) the harmless lactic acid bacteria were capable of growing better than other bacteria commonly found in milk.

Hence the presence of formaldehyd, combined with normal room temperatures, is favorable to a harmless lactic acid fermentation, and unfavorable to a mixed fermentation liable to render the milk unwholesome.

*Nachdruck verboten.*

## Bemerkungen zu der Arbeit von Mstislaw Lukin, Moskau: Experimentelle Untersuchungen über Sterilisierung der Milch mit Wasserstoffsuperoxyd, unter spezieller Berücksichtigung des von Budde angegebenen Verfahrens<sup>1)</sup>.

Von Dr. E. Baumann,

Oberarzt beim 3. Magdeb. Inf.-Reg. No. 66, früher kommandiert zum hygienischen Institut der Universität Halle a./S., jetzt zur bakteriologischen Anstalt für Lothringen, Metz.

In einem Nachtrag zu der obengenannten Arbeit bespricht Herr Mstislaw Lukin die von mir in der Münchener medizinischen

1) Diese Zeitschrift. Bd. XV. p. 20, 165.

Wochenschrift (1905. No. 23) veröffentlichte Arbeit: „Ueber die Konservierung der Milch durch Wasserstoffsuperoxyd“. Lukin führt als einen Grund dafür, daß meine Versuche ungünstiger ausgefallen sind als die seinigen, an, daß die Erhitzung der Milch nicht bei 52° C, sondern bei 45 resp. 50° vorgenommen wäre. Abgesehen davon, daß ich nur in der Minderzahl der Versuche eine Temperatur von 45° angewendet habe, möchte ich hervorheben, daß Budde selbst in der in „Tuberkulosis“ 1904 erschienenen Veröffentlichung von „etwa 52°“ spricht. Lukin führt übrigens in seiner Arbeit folgende Worte Buddes an: „Es hat sich erwiesen, daß keiner dieser Mikroorganismen der erwähnten Einwirkung (durch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) bei einer Temperatur von 40° C und darüber Widerstand zu leisten vermag“. Ich glaube also nicht, daß der Unterschied von einigen Graden von großem Einfluß auf die Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds sein wird. In meinen Versuchen habe ich absichtlich etwas niedrigere Temperaturen gewählt, denn je höher die einwirkende Temperatur ist, desto eher werden die Bakterien durch die angewendete Hitze an und für sich geschädigt bzw. abgetötet werden.

Das von mir benutzte Wasserstoffsuperoxyd habe ich allerdings, wie auch Lukin annimmt, nicht neutralisiert, da das von mir verwendete Präparat „Perhydrol“ nach Angabe der Fabrik (Merck-Darmstadt) absolut säurefrei ist.

Die Versuchsanordnung glaube ich in meiner Arbeit ausführlich genug beschrieben zu haben. Daß stets sterile Glasgefäße und sterilisiertes Wasser angewandt wurden, ist selbstverständlich. Die Platten habe ich stets nach Beendigung des Versuchs, also 2—3 Stunden nach Zusatz des Wasserstoffsuperoxyds, angelegt, während Lukin dies meist nach 24 Stunden tat. Bei Besichtigung der Platten nach 3—4 Tagen habe ich immer das Mikroskop zu Hilfe genommen, da häufig die aufgegangenen Kolonien äußerst klein waren.

### Inhalt.

**Baumann, E.**, Bemerkungen zu der Arbeit von Mstislav Lukin, Moskau: „Experimentelle Untersuchungen über Sterilisierung der Milch mit Wasserstoffsuperoxyd, unter spezieller Berücksichtigung des von Budde angegebenen Verfahrens“, p. 639.

**Chester, Frederick D. and Brown, Thomas E.**, On the action of formaldehyd in the preservation of milk, p. 629.

**Düggeli, Max**, Bakteriologische Unter-

suchungen über das armenische Mazun, p. 577.

**Maurizio, A.**, Zur Lebensweise der Milben der Familie der Tyroglyphinae in Futter- und Nahrungsmitteln, p. 606.

**Müller-Thurgau, H.**, Die Milbenkrankheit der Reben (Verzweigung, Court-noué, Kräuselkrankheit etc.), p. 623.

**Peter, A. und Schneebeli, M.**, Ein bemerkenswerter Fall von nachträglicher Käseblähung, p. 600.

# Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XV. No. 21.

## Referate.

**Marino, L. e Sericano, G.,** Studio chimico e fisico su la natura chimica degli enzimi e la loro attività. (Atti d. Società Ligustica di Scienze. Vol. XVI. 1905. p. 46.)

Die Verff. beabsichtigen, die Enzyme einer umfassenden chemischen und physikalischen Untersuchung zu unterwerfen.

Elementaranalysen. Emulsin wurde aus 20–25 kg Mandelfutterkuchen gewonnen. Der Kuchen wurde fein zerrieben, mit thymolhaltigem Wasser 24 Stunden extrahiert und bei einem Druck von 150 bis 200 Atmosphären gepreßt, der Preßsaft mit Alkohol gefällt, der Niederschlag auf konz. Schwefelsäure getrocknet und in Wasser wieder aufgelöst. Nach zweimaliger Fällung, Trocknung und Auflösung setzte man Chlorammonium und Ammoniak hinzu, ließ 12 Stunden stehen, dialysierte und fällte mit Alkohol. Nach 6–7maliger Wiederholung dieser Operation enthielt das trockene Emulsin nur 0,5 Proz. Asche, bestehend aus Ca- und Mg-Phosphat.

Maltase wurde aus keimender Gerste in derselben Weise hergestellt.

Eigentümlich sind die Löslichkeitsverhältnisse beim Emulsin. Zwischen 0° und 20° C löst sich Emulsin in wenig Wasser sehr schnell, wenn trocken angerührt; die dicke Lösung gibt aber in viel Wasser eine milchige Trübung, die erst dann verschwindet, wenn man recht viel Emulsin hinzugibt. Oberhalb 30° C löst sich Emulsin in allen Verhältnissen zu einer klaren Flüssigkeit. — Maltase zeigt dasselbe Verhalten, jedoch liegt die Temperaturgrenze etwas tiefer.

Emulsin (fünfte Fällung mit 2,2 Proz. Asche) gab als Mittel aus 5 Analysen: C 43,68; H 7,62; N 13,64; Maltase (vierte Fällung mit 3,6 Proz. Asche): C 43,48; H 6,87; N 6,80.

Einfluß des Lichtes. Emulsin wurde durch die Wirkung auf Salicin bestimmt. 18–20-proz. Emulsinlösungen standen täglich 6 Stunden im Sonnenschein, dann in starkem diffusen Lichte. Die Wirksamkeit sank bis zum 11. Tage, dann aber stieg sie wieder bis zum 26. Tage, um nachher wieder zu sinken. Nach 60 Tagen war das Enzym wirkungslos, hatte jedoch sämtliche übrigen physikalischen und chemischen Eigenschaften beibehalten.

Emulsin und Diastase in gleichkonzentrierten Lösungen zeigen dasselbe spezifische Drehungsvermögen und dieselbe spezifische elektrolytische Leitfähigkeit.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt. Pantanelli (Rom).

**Gorini, C.,** Su la necessità di ordinare la classificazione dei bacterii del latte. (Agricoltura moderna. Vol. XI. 1905. p. 509.)

Verf. bedauert, daß man fortwährend neue Milchkakterien beschreibt, ohne ihre möglicherweise vorhandene Identität oder Verwandtschaft mit bekannten Arten festzustellen zu suchen. Bezüglich der peptonisierenden Milchkakterien meint Verf., daß sie in zwei Untergruppen, die alkali-peptonisierenden und die acidopeptonisierenden zerfallen dürfen. Noch richtiger wäre, die letzteren als säurelabbildende (acidopresamigeni) zu

bezeichnen. Diesen vom Verf. entdeckten Bakterien kommt eine außerordentlich hohe Bedeutung zu; man findet sie in den Milchdrüsengängen der Kuh, in der Marktmilch, dem reifenden Grana und anderen Käsen.

Eine weitere verwirrungsvolle Gruppe wird von den anaëroben Käsebakterien gebildet, worunter sich manche Buttersäurefermente vorfinden, während andere Butylfermente aërob sind. Noch schwieriger ist eine Orientierung bei den Bakterien, welche Krankheiten der Molkereiprodukte hervorrufen. Daher richtet Verf. an alle Fachgenossen eine dringende Bitte, sich auf dem nächsten internationalen Milchkongreß in Paris mit der Nomenklaturfrage ernstlich zu beschäftigen.

Pantaneli (Rom).

**Brüning, Herm.,** Rohe oder gekochte Milch? (Münchener med. Wochenschr. 1905. No. 8.)

B. hat von einer viergliedrigen Hundefamilie desselben Wurfs 2 Tiere bei der Mutter belassen, 1 mit 15 Minuten lang gekochter und 1 mit roher Kuhmilch aufgezogen. Die Muttermilchtiere haben sich prächtig entwickelt, weniger gut das Tier, das gekochte Kuhmilch erhielt, kümmerlich der Hund, der rohe Kuhmilch bekommen hatte. Er war in seinem Zuwachsquotienten um das Dreifache hinter dem Muttermilchtiere und fast um das Doppelte hinter dem mit gekochter Kuhmilch genährten Tiere zurückgeblieben und wies außerdem deutliche rhachitische Erscheinungen auf. Tuberkulose wurde bei allen 4 Hunden durch die Tuberkulinprobe ausgeschlossen.

Georg Schmidt (Berlin).

**Effront, J.,** Sur le procédé de fermentation à la colophane. (Le Moniteur scientifique. Livraison 766 [octobre]. Quesneville 1905.)

Bierhefe leistet beim Gärungsprozeß dem Eindringen verunreinigender Bakterien nur wenig Widerstand. Der Grund liegt nicht in chemischen Verhältnissen des Nährbodens, sondern auf physikalischer Basis. Die Hefen haben ein höheres spezifisches Gewicht als die Bakterien; so kommt es, daß bei Einsaat eines Gemisches von Hefen und Bakterien die Hefen bald zu Boden sinken, während die Bakterien (hier Milchsäurestäbchen) an die Oberfläche gelangen und sich hier ungehindert vermehren können, auch wenn sie bei Beginn des Versuches stark in der Minderzahl waren. Die Hefen können die beigemischten Stäbchen eben nur vernichten, wenn sie sie umschließen und ihre verdauenden Eigenschaften ausüben können. So erklären sich die häufigen Verunreinigungen der Kulturhefen in der Gärungsindustrie.

Es galt also, um dem abzuhelpen, irgendwie die spezifischen Gewichte der beiden Mikroorganismenarten in Einklang zu bringen. Zu dem Zweck wurde dem gärenden Most eine alkalische Kolophoniumlösung zugesetzt. Der Effekt war ein guter und spielte sich in folgender Form ab: es bildet sich eine feine Emulsion, dann tritt Hydratation ein, und es kommt zu flockigem Ausfallen des Kolophoniums. 0,3—0,5 g pro Liter genügen, um eine Vermehrung mit eingesäten Milchsäurebacillen aufzuheben. Den Mechanismus dieser Wirkung erklärt Verf. so, daß die ölige Kolophoniumlösung sich vor der Hydratisierung auf allen geformten Bestandteilen des Mostes niederschlägt; die Stäbchenbakterien nehmen besonders viel auf, da sie ja eine größere Oberfläche darbieten als die runden Hefezellen. Sie werden also relativ und absolut schwerer und kommen so den Hefezellen schon räumlich näher. Auch die verschiedene Struktur der Zellhüllen spielt vielleicht eine

Rolle, insofern sich auf den porösen Membranen der Bakterien mehr Kolophonium absetzt als auf den glatten Membranen der Hefezellen.

Die Versuche sind auch in die Praxis übertragen worden und mit vollem Erfolge. Man vermeidet die umständliche Sterilisierung, den Zusatz von Schwefelsäure und die Anwendung sehr großer Mengen von Kulturhefe, und erreicht dafür eine regelmäßige Ausbeute eines sehr reinen Alkohols.

In Frankreich sind in diesem Jahre 90 Proz. des Melassenalkohols auf diese Weise hergestellt worden. Seligmann (Berlin).

**Fischer, G.**, Natural pure yeast propagation in brewing (The Brewer and Maltster. Vol. XXIV. 1905. No. 6.)

Verf. erläutert eingehend die natürliche Reinhefenzucht, welche in der Trennung der bei der Gärung gebildeten Hefeschichten und Verwendung der wünschenswertesten Schicht zur weiteren Kultur besteht. Durch wiederholtes Ueberpumpen und Abziehen der gärenden Würze aus dem Gärbottich in ein niedriger gelegenes Gefäß wird diese Trennung im wesentlichen herbeigeführt. Kausch (Charlottenburg).

**Masoni, G.**, Nitrificazione delle materie azotate portate nel terreno con il pozzo nero. (Atti d. Accademia dei Georgofili in Firenze. Vol. LXXXII. p. 265.)

Es wurden Nitrifikationsversuche mit Abtrittsdünger ausgeführt. Die Nitrifikation geht bei Gegenwart desselben zunächst schneller vor sich; später, mit der Austrocknung und Erwärmung des Bodens, tritt Denitrifikation ein. Verf. berücksichtigt die bakteriologische Seite des Problems gar nicht, meint aber, der Kaltbrand (mal dell' arrabiaticcio) des Maises im Kreis Lucca werde durch die Bearbeitung des Bodens nach und nicht vor dem Ausstreuen des Abtrittsdüngers herbeigeführt.

Pantanelli (Rom).

**Vageler, P.**, Die Entstehung und Vegetationsverhältnisse der Moore. (Pharmazeutische Zeitung. Jahrg. L. No. 63.)

Moore sind, nach Weber, Bildungen der Erdoberfläche, die unter der Mitwirkung von Pflanzen entstanden sind und die stets oben eine Massenanhäufung von kohlenstoffreichen Zersetzungsprodukten der fast reinen Pflanzensubstanz (zumal der Cellulose) aufweisen. In ihrer Entstehungsart sind die Moore als verlandete Seen zu betrachten. Die „Verlandung“ geht naturgemäß sehr langsam von statten, Schlammanschwemmungen der Bäche und Flüsse, Staub organischer und unorganischer Natur trägt dazu bei. Unzählige niedere Schizophyceen, Reste freischwimmender Pflanzen wie Algen, festsitzende Moose, höhere Gewächse, wie *Lemna minor* und *gibba*, ferner *Najas*-Arten, Characeen, *Potamogeton* und viele andere bilden das Rohmaterial zu der von Jahr zu Jahr wachsenden Schlammsschicht. Je höher diese steigt, um so mehr ändert sich die Form der Vegetation, die in ihrer Reihenfolge in großen Zügen konstant ist und nur lokale Verschiedenheiten aufweist. Mit dem Vordringen der Gewächse verschwindet die freie Wasserfläche mehr und mehr, bis der „Rohrsumpf“ entstanden ist. Die Bildung des „Torfes“, in den sich bei Sauerstoffmangel die Pflanzenreste verwandeln, schreitet weiter, bis eintretender Wassermangel einen Wechsel der Vegetation bedingt. Die Kleinseggenarten, *Carex*, *Molinia*, ferner *Ranunculus*-Arten, *Gentianen* u. a.

treten auf in zahlreichen, sehr verschiedenen Formen, die in ihrer Gesamtheit nunmehr das Niedermoor bilden, das reich an mineralischen Bestandteilen ist. Grundbedingung für die Entwicklung so anspruchsvoller Vegetationen, wie sie das Niedermoor enthält, ist der Nährstoffreichtum des Wassers, speziell ein hoher Gehalt an Kalksalzen.

Im weiteren Verlauf wird durch die aufeinander folgenden Pflanzengenerationen der Nährstoffreichtum der oberen Schichten erschöpft. Auf den fast undurchlässigen Torfschichten bilden sich, auch unter Beteiligung von Meteorwasser, nährstoffarme Tümpel; die Vegetation wechselt wieder, bescheidenere Pflanzen treten auf, so *Viola palustris*, *Rhynchospora* u. a., zuletzt die Sphagnen, die eigentlichen Hochmoorcharakterpflanzen. Diese entwickeln bei ihrem minimalen Nährstoffbedarf ein üppiges Wachstum; der Druck der immer stärker lastenden Pflanzenmassen preßt seitlich das Wasser heraus und ebnet durch Versumpfung des Geländes den Torfmoosen den Weg. Damit ist das Schlußglied der Moorbildung erreicht; über das Niedermoor ist das Hochmoor getreten.

Seligmann (Berlin).

**Bassu, E.**, Sul fenomeno dell' anaerobiosi. (Giornale d. Società d'Igiene. Vol. XXVII. 1905. p. 72.)

Verf. findet Spuren von Sauerstoff in allen, nach den verschiedensten Methoden angestellten anaeroben Kulturen. Darauf hat er sich der mühevollen Arbeit unterzogen, die vorliegenden Methoden nach Möglichkeit zu vervollkommen und neue auszudenken. Wir können hier auf die Einzelheiten nicht eingehen, jedenfalls hat es sich ergeben, daß sich kein Mikroorganismus ohne Sauerstoff entwickelt. Angewandt wurden *Bacillus tetani*, *anthracis*, *oedematis maligni*, Bakterien aus Granakäse, faulenden Flüssigkeiten, Kot von Neugeborenen und Boden. Für all diese Organismen gibt es eine Sauerstoffschwelle, worunter keine Entwicklung möglich ist. Symbiotisch gezüchtet, können Anaeroben auf den Stoffwechselprodukten von Hefen gedeihen.

Pantanelli (Rom).

**Thaxter, Roland**, Contributions from the cryptogamic laboratory of Harvard University. LVI. Notes on the Myxobacteriaceae. (Bot. Gaz. Vol. XXXVII. 1904. No. 6.)

Nach kritischer Besprechung der von anderer Seite erschienenen Arbeiten über wirkliche und angebliche Myxobacteriaceen, z. B. Zederbauers „Spaltpilzflechten“, die mit den echten Myxobacteriaceen absolut nichts zu tun haben, beschreibt Verf. eine Reihe neuer Arten dieser merkwürdigen, sich zu höheren Pilzformen ausgestaltenden Bakterienaggregate, die selbst in neueren bakteriologischen Werken keine oder stiefmütterliche Behandlung erfuhren, während Ref. die Arbeiten Thaxters im Biol. Centralbl. und im Bakt. Centralbl. stets eingehend besprochen und den Myxobacteriaceen auch in seinem Lehrbuch der Pflanzenbiologie (Stuttgart, Enke, 1895) ein eingehendes Kapitel mit Abbildungen (p. 83—90, Fig. 6 u. 7) gewidmet hat.

Die neuen Formen sind:

*Chondromyces catenulatus* n. sp. auf einem faulen Pappelbrett, Hannover, N. H.

*Ch. pediculatus* n. sp. auf Gänsekot von Sandy Run, S. C.

*Ch. sessilis* n. sp. auf faulem Holz, Miami, Florida.

*Ch. muscorum* n. sp. zwischen Lebermoosen an Buchenstämmen, Crawfordsville, Indiana.

*Myxococcus disciformis* n. sp. auf Kot der Moschusratte von Stony Brook, Mass., auf Wildlosung von New Hampshire.

*Polyangium septatum* n. sp. auf Pferdemit, Cambridge, Mass.

*P. compositum* n. sp. auf Kaninchenkot von Sandy Run, S. C.

*P. sorediatum* n. sp. auf Kaninchenkot von Sandy Run, S. C.

*Polyangium* und *Cystobacter* sind synonym. Die frühere Gattung *Cystobacter* ist zu streichen. *C. aureus* Thaxter = *Polyangium vitellinum* Lk., *C. simplex* Thaxt. = *P. simplex*, *C. aureus* Thaxt. = *P. fuscum* (Schröt.) Zukal.

Von den früher beschriebenen Arten wurde

*Chondromyces crocatus* B. L. C. noch gefunden in New Haven, Conn., Tabor, Iowa, Florida, vom Grafen Solms-Laubach auf Pandanus-Frucht auf Java; vielleicht identisch damit ist auch

*Chondromyces sacchari* Speg. (1896);

*Ch. aurantiacus* B. A. C. wurde weiter gefunden in Florida, auf den Philippinen und von Zukal bei Wien;

*Ch. lichenicolus* Thaxter in Crawfordsville, Indiana, Weston, Mass., von Zukal in Oesterreich;

*Ch. serpens* Thaxter auf Mistkulturen, von Zukal auch in Oesterreich;

*Ch. apiculatus* Thaxter in Florida und (auf Wildlosung) auf den Philippinen.

Wahrscheinlich mit *Myxococcus rubescens* Thaxter identisch ist der von E. Baur (Archiv f. Protistenkunde. Bd. V. 1905. p. 92—121) beschriebene *M. ruber*, der nach E. Jahn (Ref. Naturw. Rundschau. 1905. No. 26. p. 327) auch in Berlin auf Mist von Pflanzenfressern ganz gemein ist.

Die selbständige Stellung der Myxobakteriaceen ist auch durch die Arbeit E. Baur's bestätigt worden. Ludwig (Greiz).

**Thaxter, Roland**, Preliminary diagnoses of new species of Laboulbeniaceae. VI. Contributions from the cryptogamic laboratory of Harvard University. LXII. (Proceedings of the American Academy of Arts and sciences. Vol. XLI. 1905. No. 11. p. 303—318.)

Mit den vorliegenden Diagnosen der neuen Arten, die Verf. in den letzten beiden Jahren fand, sollen die vorläufigen Diagnosen abgeschlossen werden, um in einem besonderen Werke mit gegen 1000 Figuren eingehender behandelt zu werden. Diese vorläufigen Diagnosen, welche seit 1899 nach der ersten Monographie der Pilzfamilie erschienen, erhöhen die beschriebenen Arten auf etwa 500, die 48 Gattungen angehören. Die neu beschriebenen Arten sind die folgenden:

*Dimeromyces Labiae* n. sp. auf *Labia minor* Burm., Cambridge, Mass.

*D. minutissimus* n. sp., ebenso.

*Monoicomycetes Leptochiri* n. sp. auf *Leptochirus*, Java.

*M. similis* n. sp. auf *Homalota* sp. auf *Lactarius*, Kittery Point, Maine.

*Eucantharomyces Madagascariensis* n. sp. auf *Callida* sp., Madagaskar.

*Chitonomyces dentiferus* n. sp. auf *Laccophilus*, Lake Eustis, Eustis, Florida.

*Ch. Javanicus* n. sp. auf *Laccophilus* sp., Java.

- Ch. spinosus* n. sp. auf *Laccophilus* sp., Java.  
*Distichomyces Leptochiri* n. g. et sp. auf *Leptochirus*, Java.  
*Herpomyces Anaplectae* n. sp. auf *Anaplecta*, Caracas, Venezuela.  
*H. Nyctoborae* n. sp. auf *Nyctobora latipennis*, Texas.  
*H. Phyllodromiae* n. sp. auf *Phyllodromia* sp., Abyssinia.  
*H. Platyzosteriae* n. sp. auf *Platyzosteria ingens* Soud., Mexiko.  
*Acompsomyces brunneolus* n. sp. auf *Corticaria* sp., Kittery Point, Maine.  
*Stigmatomyces Elachipterae* n. sp. auf *Elachiptera longula* Loew, Intervale, New Hampshire.  
*St. micrandrus* n. sp. auf einer Fliege, Ralum, New Pomerania (Berliner Museum).  
*St. pauperculus* n. sp. auf einer Fliege (Berliner Museum).  
*St. Sarcophagae* n. sp. auf *Sarcophaga* sp., Venezuela.  
*St. Venezuelae* n. sp. auf *Limosina* sp., Venezuela.  
*Rhachomyces Javanicus* n. sp. auf einem Käfer, Buitenzorg, Java.  
*Rh. Aphanopsis* n. sp. auf *Aphanops cerberus*, Ariège, Frankreich.  
*Laboulbenia bilabiata* n. sp. auf *Brachinus armiger*, Kap der guten Hoffnung.  
*L. olivacea* n. sp. auf *Lebia*, Java.  
*L. pusilla* n. sp. auf *Brachinus scotomedes*, Japan.  
*L. rotundata* n. sp. auf *Dineutes spinosus*, Java.  
*L. Chaetophora* n. sp. auf *Dineutes solitarius*, Madagaskar.  
*L. pallescens* n. nom. (= *L. pallida* Thaxt.) auf *Clivina*, Zentralamerika.  
*Coreomyces curvatus* n. g. et sp. auf *Corisa*, Cambridge.  
*Ceratomyces falcifera* n. sp. auf *Berosus*, Java.  
Ludwig (Greiz).

**Seiler, Franz**, Zusammensetzung der durch Bakterien gebildeten Schleime. [Diss.] 8°. 45 p. Münster i. W. 1905.

Schleimstoffe werden von manchen Bakterien nicht nur bei der Ernährung mit Zucker, sondern auch bei der mit gewissen stickstoffhaltigen organischen Stoffen, wie Pepton, Asparagin, Glykokoll, erzeugt.

Die aus den Nährlösungen und von festen Nährböden gewonnenen Schleime enthalten stets große Mengen anhydrischer Kohlenhydrate oder bestehen ganz aus solchen.

Diese Anhydride bestehen teils aus Fruktose- und Glykosegruppen, teils aus Galaktosegruppen, die aus den als Nährstoff gebotenen Kohlenhydraten zum Teil durch Synthese, zum Teil anscheinend auch durch Umlagerung entstehen. Ein Umbau bzw. eine sterische Umlagerung der Zuckerarten findet hierbei nur in beschränktem Maße statt; nur bei Glykose muß eine Umlagerung in Galaktose angenommen werden.

Ein Kohlenhydrat von den Eigenschaften der früher angenommenen Methans konnte bei Anwendung von Schleimbildnern in Reinkulturen in keinem Falle nachgewiesen werden.

Nach der Zusammensetzung der Schleime kann man bisher folgende Gruppen schleimbildender Bakterien aufstellen:

A. Schleime aus Anhydriden der Herzen.

1) Gallerte mit Glykose- und Fruktosegruppen:



- Leuconostoc mesenteroides*,  
*Streptococcus hornensis*.
- 2) Schleime mit Glykose- und Fruktosegruppen:  
*Bacterium K*,  
*Bac. viscosus* Adametz,  
*Bac. mesentericus vulgaris*.
- 3) Schleime mit Glykose-, Galaktose- und Fruktosegruppen:  
*Bac. aërogenes*,  
*Bac. bruxellensis*,  
*Dematium pullulans*.
- B. Schleime aus Anhydriden der Pentosen:  
*Bact. pararabinum*,  
*Bac. acaciae*,  
*Bact. metarabinum*,  
*Bact. persicae*.
- C. Schleime aus Stickstoffverbindungen (?):  
*Streptococcus hollandicus*. E. Roth (Halle a. S.).

**Czapek, Friedrich**, Biochemie der Pflanzen. Bd. II. Jena (Gustav Fischer) 1905.

Dem in dieser Zeitschr. Bd. XIV. No. 8 besprochenen ersten Bande des großen Werkes von Czapek ist erfreulich rasch der Schluß, ein Band von nahezu 1000 Seiten, gefolgt. Was dem ersten Teile Rühmendes nachgesagt wurde, kann ohne Einschränkung auf den zweiten übertragen werden. Große Vollständigkeit mit einer staunenswerten Beherrschung der oft weitverstreuten Literatur, Uebersichtlichkeit der Anordnung, Klarheit der Darstellung sind ihm eigen und werden von allen, denen dieses Buch ein Hilfsmittel für ihre Arbeiten sein soll und wird, dankbar empfunden werden. Es ist wohl alles angeführt, was man im Gebiete des Werkes weiß, aber auch das, was man nicht weiß, und damit ist an vielen Stellen auf Stoffe für die Arbeit vieler neuer Kräfte hingewiesen, welche dem Studium zuzuführen eine der Hauptabsichten des Buches bildet.

Eine Besprechung der Eiweißstoffe leitet den Band ein, bei deren allgemeiner Bearbeitung freilich, dem Stande der Forschung gemäß, die Darlegung unsere Kenntnisse über das tierische Eiweiß vielfach überwiegen mußte. Es folgt, besonders wichtig für den Bakteriologen, eine Darlegung desjenigen, was man über den Eiweißstoffwechsel von Bakterien und Pilzen weiß: analytische Untersuchungen der fertigen Pflanzen, dann die Resorption der Eiweißstoffe durch Bakterien und Pilze, wobei die dabei tätigen Enzyme ausführlich berücksichtigt werden und die Eiweißfäulnis ihren Platz findet.

Stickstoffgewinnung und Eiweißbildung geben den Inhalt des nächsten Kapitels an, wobei Bakterien, Hefepilze und höhere Pilze, über welche letztere wir ja dem Verf. sehr genaue Angaben verdanken, gesondert besprochen werden. Die Abschnitte über Harnstoffgärung, Denitrifikation, Nitrifikation und Assimilation freien Stickstoffes durch Bakterien stehen im Mittelpunkt des Interesses der Bakteriologen und erfahren eingehendste Bearbeitung.

Der Eiweißstoffwechsel in Organen höherer Pflanzen (Samen, Knollen, Laub, Früchte etc.) bildet den Inhalt des 32.—39. Kapitels, die wichtige Frage der Art der N-Aufnahme aus der Erde durch die Wurzeln von Phanerogamen enthält das 40. Kapitel, dem sich noch Angaben über die

Besonderheiten der Resorption stickstoffhaltiger Stoffe bei insektivoren Pflanzen anschließen. Mit einer überaus genauen Darstellung der Purin-, Chinolin- und Pyridinbasen, der Indolderivate etc., als den N-haltigen Endprodukten des Pflanzenstoffwechsels, schließt dieser Abschnitt.

In dem 8. Kapitel über Sauerstoffresorption ist kaum eine Seite ohne Wichtigkeit für den speziellen Bakteriologen, es sei nur auf die Abschnitte über Pflanzensäuren, über Anaërobiose, über Oxydasen, über Buttersäuregärung etc. hingewiesen. Den bakteriellen Farbstoffen ist ein eigenes Kapitel zugeteilt. Auch für den Mineralstoffwechsel der Pflanze sind Bakterien und Pilze gesondert behandelt.

Von großem Interesse ist das letzte Kapitel über „chemische Reizwirkungen“, in welchem die physiologische Beziehung, die der Verf. im ganzen Buche aufrecht zu erhalten wußte, besonders klar zu Tage tritt. Die am längsten bekannte abtötende und entwicklungshemmende Wirkung chemischer Stoffe wird hier ebenso besprochen, wie deren Anreiz auf das Wachstum, auf die Formbildung, die Befruchtung und Bewegung.

Ein bloßes Referat kann dem Inhalte und Werte des Czapek'schen Werkes, das durch zahlreiche Literaturnachträge bis auf die letzte Zeit ergänzt ist, kaum gerecht werden. Es kann und soll nur darauf hinweisen, daß ein Buch geschaffen ist, das jedem, der auf bakteriologischem, botanischem, aber auch allgemein physiologischem Gebiete arbeitet, überall Auskunft und Aufschlüsse zu geben vermag, das nicht eine reine Zusammenstellung chemischer Befunde, sondern eine Verarbeitung derselben vom physiologischen Standpunkte aus enthält. Es soll schließlich der Freude darüber Ausdruck verleihen, daß wir jetzt ein solches Werk unser eigen nennen können.

Bail (Prag).

**Mollisch, Hans**, Die Lichtentwicklung in den Pflanzen. (Naturwissensch. Rundschau, herausgeg. von W. Sklarek. Jahrg. XX. 1905. No. 40. p. 505—511.)

J. F. Heller gebührt die Priorität, nachgewiesen zu haben, daß nicht das faule Holz, Fleisch u. s. w. leuchte, sondern daß die Lichtentwicklung von Pilzen herrührt. Das Leuchten stellt also einen biologischen Prozeß vor. Die Hauptpunkte der zusammenfassenden kritischen Arbeit des Verf. sind folgende: 1) Alle lichtgebenden Pflanzen gehören zu den Bakterien oder Fadenpilzen. 2) Das *Bacterium phosphoreum* ist eins der gemeinsten Bakterien. 3) Das Leuchten und die Entwicklung der Leuchtbakterien stehen in Abhängigkeit von gewissen Salzen und organischen Stoffen (z. B. Beijerinck's Reaktion der Photobakterien auf Lävulose, Glykose etc.; Nachweis minimaler Mengen von Enzymen und von Sauerstoff nach Beijerinck). 4) Der Pilz, welcher nicht nur in Java, sondern auch in Mitteleuropa das Leuchten der abgefallenen verwesenden Eichen- und Buchenblätter hervorruft, ist noch nicht eruiert. 5) Das Leuchten des faulen Holzes ist zurückzuführen auf das Mycel des *Agaricus melleus* und eines Myceliums X, dessen Fruktifikationsorgane noch nicht bekannt sind. 6) Die Lichtentwicklung darf mit dem Atemprozeß nicht identifiziert werden. 7) Ansichten über die Photogentheorie. Manche Gewebe und Zellen leuchten sogar im leblosen Zustande. 8) Unterschied zwischen der Art des Leuchtens beim Tiere und bei der Pflanze (Tiere leuchten kurze Zeit, Pflanzen oft jahrelang, wenn großer Nahrungsvorrat vorhanden ist). 9) Konstruktionen von Bakterienlampen. 10) Untersuchung des Spektrums und Wirkung des Lichtes auf die photographische Platte. 11) Das

Bakterienlicht wirkt heliotropisch. 12) Nutzen des Lichtes bei Tieren und Pflanzen; die darüber angestellten Versuche und ausgesprochenen Hypothesen. 13) Es existiert ein wahrer Kreislauf von Licht zu Licht in der Pflanze. Das von derselben aufgefangene und verwendete Licht ist von der Pflanze wiedergeborenes Sonnenlicht.

Wer sich über den augenblicklichen Stand der interessanten Frage orientieren will, greife zu dieser alles Wissenswerte enthaltenden kurzen Arbeit.

Matouschek (Reichenberg).

**Guilliermond**, Remarques sur la cytologie des Ascomycètes. (Compt. rend. soc. biol. 1904. 23 juillet.)

Verf. studiert zuerst die Bildung der Schläuche bei *Peziza leucomelas* und bei *P. catinus*. Bei *P. leucomelas* stammt der Schlauch von der terminalen Zelle einer zweikernigen Kette. Diese läßt die beiden Kerne verschmelzen und entwickelt sich zum Schlauch.

Bei *P. catinus* entstehen die Schläuche aus Filamenten, deren terminale Zelle unkernig ist und deren subterminale zwei Kerne einschließt. Diese letztere läßt einen Seitenzweig entstehen, in den die beiden Kerne dringen und der sich in einen Schlauch umwandelt nach Verschmelzung der beiden Kerne.

Verf. hat außerdem die Kernteilung der Mutterzellen der Schläuche bei *Galactinia mucosa* verfolgt und bestätigt die Resultate von Marie. Es sind bei dieser Art vier Chromosomen vorhanden; G. zeigt aber im Gegensatz zu der Ansicht Maries, daß die Zahl der Chromosomen nach der Art wechselt und daß sie nicht bei allen Ascomyceten vier ist. Seine früheren Beobachtungen haben dieses bewiesen.

Beauverie (Lyon).

**Lemée, E.**, Les ennemis des plantes. Catalogue raisonné des insectes cécidogènes et non cécidogènes, maladies cryptogamiques, phanérogames parasites sur les plantes vivantes; fasciations, cas de tératologie. (Bull. soc. hortic. de l'Orne. Alençon 1903. 125 p.)

Unter diesem Titel veröffentlicht der Verf. einen Katalog der Cecidien, der kryptogamischen Krankheiten (811 Nummern) und der Fälle von Teratologie, welche in der Umgegend von Alençon beobachtet worden sind. Die Pflanzen sind alphabetisch geordnet. Am Schlusse der Arbeit finden sich Listen von Insekten, welche Obst-, Wald- und Harzbäume, Küchengewächse und Getreidepflanzen angreifen.

Houard (Paris).

**Lemée, E.**, Les ennemis des plantes. 3<sup>e</sup> Sér. No. 1: Arbres fruitiers. (Bull. soc. hortic. de l'Orne. Alençon 1904. 199 p.)

Die dritte Serie der „Ennemis des Plantes“, deren Veröffentlichung Verf. unternommen hat, umfaßt: Die Feinde der Obstbäume, der Gemüsepflanzen, der Blumen, der Kulturpflanzen und endlich die der Frucht- oder Zierbäume.

Die Feinde der Obstbäume (No. 1) sind ausführlich in einem Bande von ca. 200 Seiten, der Darstellung in bewährten Handbüchern folgend, beschrieben. Verf. befaßt sich darin mit den Kryptogamen und den Insekten, die den Birnbaum, den Apfelbaum, den Quitten- und Pflaumenbaum befallen, und gibt kurz die anzuwendenden Schutzmittel an.

Jedes Kapitel endet mit einer analytischen Erklärung.

Houard (Paris).

**Arthur, J. C.**, Terminology of the spore-structures in the Uredinales. (Botanical Gazette. Vol. XXXIX. 1905. p. 219—222.)

Verf. will eine neue Bezeichnungsweise einführen, die auch für die Bildung von Zusammensetzungen und Adjektiven geeignet ist, und zwar:

Statt Pycnidium (Spermogonium) . . . Pycnium  
 „ Aecidium . . . . . Aecium  
 „ Uredo . . . . . Uredinium  
 „ Teleutosporenlager (Teleutosporus) . Telium

Praktisch sind wohl die Ausdrücke, aber sprachlich unrichtig, da die entsprechenden griechischen Worte fehlen.

Matouschek (Reichenberg).

**Arthur, J. C.**, Cultures of Uredineae in 1904. (Journ. of mycology. Vol. XI. 1905. p. 50—67.)

Es gehören:

Melampsora Bigelowii Thüm. auf Salix amygdaloides zu einem Caeoma auf Larix decidua;

Puccinia tomipara Trel. auf Bromus ciliatus zu einem Aecidium auf Clematis Virginiana;

Puccinia Stipae Arth. zu Aecidien auf Aster multiflorus, ericoides und Novae Angliae;

Puccinia Sorghi Schw. zu Aecidium Oxalidis Thüm.;

Puccinia Podophylli zu einem Aecidium auf demselben Wirt.

Außerdem erfahren wir, daß die Aecidium-Form von Puccinia Polygoni-amphibii Pers. in Nordamerika auf Geranium maculatum gebildet wird. — Die Versuche mit Puccinia Helianthi Schw. zeigten die Identität der Formen des Sonnenblumenrostes auf vielen Nährpflanzen. — Die Nährpflanzen für das Aecidium von Puccinia submitens Diet. sind: Chenopodium album, Lepidium apetalum, L. Virginicum, Sophia incisa, Erysimum asperum und Cleome spinosa.

Matouschek (Reichenberg).

**Gibson, Miss C. M.**, Notes on infection experiments with various Uredineae. (The new Phytologist. Vol. III. 1904. p. 184—194. Mit 2 Taf.)

1) Angaben über die Temperaturgrenzen, innerhalb welcher die Keimung der Sporen erfolgt, ferner über die Keimkraftdauer der Uredosporen von Puccinia Chrysanthemi und der Aecidiosporen von Phragmidium Rosae-alpinae.

2) Uredo- und andererseits Aecidiosporen verschiedener Uredineen wurden auf Nährpflanzen ausgesät, die nicht zu den Wirten der betreffenden Arten gehören, nämlich auf Ranunculus Ficaria, Caltha, Valeriana, Tropaeolum. In den meisten Fällen dringt zwar der Keimschlauch durch die Spaltöffnungen ein und setzte sich auch bis in tiefere Schichten fort, aber nach dem 4. Tage waren die Hyphen stets abgestorben. Haustorien wurden nie ausgebildet.

3) Wurden Sporen von Uredo Chrysanthemi auf die Blätter solcher Chrysanthemum-Varietäten, die sonst nicht infizierbar sind, verpflanzt, so stirbt die Blattsubstanz um die befallenen Stellen ab. Es zeigen die Versuchsreihen 2 und 3, daß, je näher die befallene Pflanze mit dem eigentlichen Wirt verwandt ist, desto größer die abgestorbene Blattpartie ist, daher der Kampf zwischen Pilz und nicht konvenierendem Wirt desto länger dauert.

Matouschek (Reichenberg).

**Malenković, Basilius,** Ist Holz durch Bakterien vergärbar? (Zeitschr. f. das landw. Versuchswesen in Oesterreich. 1905. p. 852.)

Wenn einmal die das Holz bildenden Bestandteile bezüglich ihrer chemischen Zusammensetzung genau bekannt sein werden, wenn weiterhin von jedem Einzelbestandteil bekannt sein wird, unter welchen Bedingungen er einer Zersetzung durch Bakterien zugänglich ist, dann wird auch beantwortet sein, unter welchen Bedingungen eine Zerstörung des Holzes durch Bakterien stattfindet und welche Produkte hierbei entstehen. Aber auch jetzt schon ist eine rein empirische Trennung der Bestandteile des Holzes möglich, nämlich die Trennung in wasserlösliche und wasserunlösliche Bestandteile. Extrahiert man die wasserunlöslichen Bestandteile außer mit Wasser noch mit Alkohol, Aether u. s. w., so bleibt die Holzsubstanz zurück. Gelingt es im Laboratorium, die wasserlöslichen Bestandteile des Holzes von den wasserunlöslichen zu trennen, so ist schon damit die Aufgabe vereinfacht, denn es können beide Gruppen für sich auf ihre Fähigkeit, zerstört zu werden, untersucht und möglicherweise verwertbare Ergebnisse erzielt werden. Die wasserlöslichen Bestandteile der Nadelhölzer (Laubhölzer wurden nur nebenbei berücksichtigt) wurden durch wiederholtes Auskochen von einem Teil Sägespäne mit ungefähr 10 Teilen destillierten Wassers hergestellt; die erhaltenen Extrakte wurden zusammengegossen, die Mischung wurde filtriert, so weit eingedampft, daß einem Gewichtsteil Holz ein Volumteil Extrakt entsprach, und nochmals filtriert. Der auf diese Weise erhaltene Extrakt wurde Holzextrakt genannt und zu den Untersuchungen herangezogen.

Die Untersuchungen führten zu den folgenden Schlußfolgerungen: 1) Reine Holzsubstanz ist vorläufig — als Ganzes genommen — als durch Bakterien nicht vergärbar anzusehen. 2) Der Holzextrakt bietet Lebensbedingungen für Bakterien. 3) Die Lebensbedingungen für Bakterien auf Holz sind dann die besten, wenn eine Neutralisation der freien Säuren und eine Entfernung der Harze (Gerbstoffe) oder statt dessen ein Unlöslichmachen derselben eintritt, schließlich auch dann, wenn Nitrate zugegen sind. 4) Die auf Holz gedeihenden Bakterien sind nicht im stande, Cellulose zu vergären. 5) Da die Holzsubstanz durch Bakterien überhaupt ganz unvergärbar ist, der Holzextrakt aber für die Erreger der Cellulosegärung kein geeigneter Nährboden ist, so kann von einer Sumpfgasgärung und überhaupt von Cellulosegärungen unversehrten Holzes keine Rede sein. 6) Ist einmal der Holzextrakt, so weit als er zu vergären im stande ist, vergoren, so hört jede Bakterientätigkeit auf Holz auf und kann erst dann neuerdings beginnen, wenn vorher durch andere Umstände (Schimmelpilze, Alkalien) eine geeignete Spaltung der Holzsubstanz eintritt. Aber auch dann dürfte eine Zersetzung durch Bakterien erst eintreten, wenn einzelne antiseptisch wirkende Spaltungsprodukte vorher entfernt (ausgelaugt) werden. 7) Ist Holz im Kontakte mit reichlichen Mengen organischer Stoffe, so liegen besondere, hier nicht berücksichtigte Verhältnisse vor. 8) Wie aber auch die Umstände beschaffen sind, stets erweist sich die Holzsubstanz als gegen Bakterientätigkeit sehr widerstandsfähig, und stattgefundene Veränderungen sind entweder auf Schimmelpilze (eventuell sogenannte echte Holzpilze) oder rein chemische Prozesse zurückführbar. Stift (Wien).

**Heinricher,** Ein Hexenbesen auf *Prunus Padus* L. (Naturwissenschaftl. Zeitschrift für Land- u. Forstwirtschaft. 1905. Heft 8.)

Verf. berichtet über einen riesigen Hexenbesen, der auf einer Traubenkirsche in der Nähe Innsbrucks sich findet, und auch im Bilde vorgeführt wird. Ueber den Erreger ist noch kein Aufschluß zu geben, gegen *Exoascus Cerasi* (Fuckel) Sadebeck sprechen mehrere Momente.  
Ehrenberg (Breslau).

**Heinricher**, *Exoascus Cerasi* (Fuckel) Sadebeck als günstiger Repräsentant Hexenbesen bildender Pilze für pflanzenbiologische Gruppen. (Naturwissenschaftl. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. 1905. Heft 8.)

Verf. kultiviert in pflanzenphysiologischen Gruppen des Innsbrucker Gartens von Hexenbesenbildnern: *Melampsorella Caryophyllocearum* Schröter (auf Weißtanne Hexenbesen bildend) und *Puccinia Arrhenateri* (Kleb.) Ericks. (auf Sauerdorn Hexenbesen bildend), beides Rostpilze, und *Exoascus epiphyllus* Sadebeck (Grauerle), wie *Exoascus Cerasi* (Fuckel) Sadebeck (Kirsche).

Von den zwei letztgenannten Hexenbesen bildenden Exoasceen macht die Kultur von *Epiphyllus* keine Schwierigkeiten. Von *Exoascus Cerasi*, bei dem künstliche Infektion aussichtslos ist, ein Verpflanzen besetzender Stämme sich auch durch deren Größe meist verbietet, gelang es Verf., durch Pfropfung die zu demonstrierende Mißbildung auf gesunde Bäumchen zu übertragen; dabei konnte innerhalb von 5 Jahren nicht beobachtet werden, daß die aufgepfropften Hexenbesen auf dem Bäumchen neue Infektionen hervorgerufen hätten, wie überhaupt diese auch in der Natur selten zu sein scheinen. Ehrenberg (Breslau).

**v. Tubeuf**, Hexenbesen an *Prunus Padus*. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Land- und Forstwirtschaft. 1905. Heft 9.)

Verf. berichtet von 2 Fällen von Hexenbesen an *Prunus Padus* und bittet um Zusendung von Mitteilungen und Proben der Mißbildung auf dem gleichen Baum.  
Ehrenberg (Breslau).

**Korff, G.**, Ueber Wurzelbildungen bei Obstbäumen. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jahrg. III. 1905. Heft 6. p. 66—69.)

Wurzelkröpfe sind bei sämtlichen Laubbäumen und Beerensträuchern häufige Erscheinungen und wird als deren Hauptursache Wundreiz angesehen, welchem sich laut Angaben einiger Autoren als Krankheitserreger auch Schleimpilze anschließen sollen. Die Krankheit stellt sich hauptsächlich in gut gedüngten Baumschulen ein und wird durch die beträchtliche Größe der Wucherungen ein mangelhaftes Wachstum der Bäumchen hervorgerufen. Zur Feststellung der Entstehungsart der Wurzelkröpfe wird um Einsendung diesbezüglicher Mitteilungen und Untersuchungsmaterial ersucht.  
Pósch (Grinád).

**Laubert, R.**, Die Kropfkrankheit (*Plasmodiophora*) des Kohls und ihre Bekämpfung. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jahrg. III. 1905. Heft 7. p. 73—79.)

Es wird hier eine ausführliche Beschreibung der auch unter den Namen Kohlhernie, Knotensucht, Fingerkrankheit, Klumpfüße und Kelch bekannten und in Form verschiedenartiger Wurzelanschwellungen sich äußernden Kropfkrankheit des Kohls und deren Bekämpfung gegeben. Letztere wurde durch Anwendung von Schwefelkohlenstoff oder ver-

dünntem Petroleum erfolgreich erprobt, es muß jedoch dem Verfahren eine ausgiebige Verabreichung von gelöschtem Kalk (1—1½ dz pro Ar) vorangehen. Die üblichen Bekämpfungsmaßnahmen (Wahl gesunder Erde, Vernichtung der erkrankten Teile, entsprechender Fruchtwechsel etc.) sind auch hier durchzuführen. P ó s c h (Grinád).

**Brizi, V.**, Sul brusone. (Agricultura moderna. Vol. XI. 1905. p. 380, 394, 452.)

Trotz der Versuche Voglinos (1902), der einen im Humusboden lebenden Bacillus als Erreger annimmt und die Krankheit durch die Wurzeln eindringen läßt, trotz der Arbeit von Ferraris (1903), welcher *Piricularia Oryzae* beschuldigen möchte, und obwohl Farneti (1904) sämtliche auf den erkrankten Reisstengeln gefundene Pilze als Entwicklungsformen der *Piricularia* betrachtet, kennt man die wahre Ursache des „brusone“ (Brandes) des Reises noch nicht. Verf. unterwirft die ganze Frage einer gründlichen Bearbeitung. Die erste Veränderung tritt in den feinsten Faserwurzeln auf, welche verbräunen und verfaulen. Die früheren Forscher hatten, mit Ausnahme von Voglino, diese Tatsache übersehen, wahrscheinlich, weil sie die Pflanzen aus dem Boden herauszureißen pflegten und die toten Wurzeln im Boden zurückblieben.

Die erste Andeutung der Krankheit liegt in der Verbräunung der Parenchymwände der feinsten Wurzeln, demnächst des Epiblems und des Zentralcyinders; kurz darauf sterben die Protoplasten der Parenchymzellen ab. Das geschieht in einer Zeit, wo kein Zeichen der Krankheit auf den oberirdischen Teilen zu sehen ist. Trotzdem kann der Reis, dank seinem reich und tief verästelten Wurzelsystem, bis zur Blüte weiterwachsen.

Züchtet man den Reis in schlecht belüfteter Wasserkultur, so bekommt man nach wenigen Tagen einen typischen „brusone“ sowohl auf den Wurzeln, wie auf den Stengeln und Blättern. Verf. zieht aus diesen Versuchen den Schluß, daß der Brusone keine parasitische Krankheit, sondern eine Folge des Absterbens mehrerer unter den kleinsten, zu tief in den sauerstofffreien Schlamm herabsinkenden Wurzeln darstellt. In der Tat tritt diese Krankheit in zähen Böden und bei Erhöhung der Bodentemperatur unter dem Reisfeld viel häufiger und schwerer auf. Vor dem Ausbrechen der Krankheit nehmen die oberirdischen Teile einen dunkleren Farbenton an, wie es für manche Wurzelkrankheiten bekannt ist.

Uebrigens erscheinen braune Flecke auf dem Kragen oder am ersten Internodium als erstes Zeichen der Krankheit auf dem Stengel; bald darauf findet eine reiche Adventivbildung von Ersatzwurzeln statt. Dieselben Erscheinungen beobachtet man in schlecht durchgelüfteten Wasserkulturen. Darum pflegen die Landwirte, um der Krankheit möglichst vorzubeugen, frisches Wasser ab und zu hinzuzuließen zu lassen, das Wasser zu rechter Zeit abzulenken, den Boden tief zu bearbeiten. Man pflegt auch zu sagen: „Das warme Wasser im Reisfeld kocht die Wurzeln und verbrennt die Stengel“.

In Bezug auf die vermeintlichen Parasiten bemerkt Verf., daß dieselben, auch *Piricularia*, nur auf toten Geweben auftreten, und die Tatsache, daß das Reisfeld öfters streifen- oder fleckenweise von der Krankheit befallen wird, spricht eher zu Gunsten der konstitutionellen Natur des Brusone. Damit ist es aber nicht ausgeschlossen, daß durch

die Verschimmelung noch schwerere Komplikationen herbeigeführt werden können.  
Pantaneli (Rom).

**Krüger**, Untersuchungen über den Gürtelschorf der Zuckerrüben. (Fühlings Landwirtschaftl. Zeitung. 1905. No. 15.)

Verf. erwähnt, daß Oospora-Pilze an dem Gürtelschorf der Zuckerrüben beteiligt sind, indem sie in durch Würmer geschaffene Wunden eindringen. Diese Würmer, zu den Enchyträiden gehörig, wirken auch durch den infolge ihrer Ernährungstätigkeit auf den Rübenkörper ausgeübten Reiz krankheitsveranlassend. Kalk dient zur erfolgreichen Bekämpfung. Auf eine größere Abhandlung gleichen Titels (Bd. IV. Heft 3 der Arbeiten aus der biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft am Kaiserlichen Gesundheitsamt) wird verwiesen.

Ehrenberg (Breslau).

**Stift, A.**, Bemerkungen über den Gürtelschorf der Rüben. (Wiener landwirtsch. Ztg. 1905. p. 712.)

Nach der Beobachtung von Krüger wird die Krankheit durch diese Tätigkeit der Enchyträiden verursacht, indem diese Würmer den Rübenkörper verwunden, durch welche Wunden dann Pilze (Oospora-Arten) in das gesunde Gewebe des Rübenkörpers eindringen. Nach weiteren Beobachtungen Krügers können aber auch die Enchyträiden allein, also ohne den Oospora-Arten, indem sie durch ihre Ernährungstätigkeit einen ständigen Reiz auf die Rübenoberfläche ausüben, eine Schorfbildung hervorrufen. Krüger spricht sich weiter dahin aus, daß sich Beweise dafür, daß auch die extremen Formen des Gürtelschorfes ohne Mitwirkung von Parasiten entstehen können, bis jetzt nicht haben erbringen lassen. Verf. hat nun 20 Stück Rüben aus Oberungarn, welche in mehr oder weniger starkem Grade die Erscheinung des Gürtelschorfes zeigten, näher untersucht und in keiner der Rüben, wie auch nicht in der sie umgebenden Erde, Enchyträiden finden können. Bezüglich der Oospora-Arten läßt Verf. die Frage noch offen. Jedenfalls steht aber fest, daß sich die Behauptung von Krüger nicht verallgemeinern läßt und daß daher der Gürtelschorf auch ohne die Tätigkeit von Enchyträiden entstehen kann. Ungünstige Witterungsverhältnisse, speziell heiße Trockenperioden, scheinen auch keinen Einfluß ausgeübt zu haben, da sich das betreffende Rübenfeld einer ganz normalen Regenmenge erfreut hatte. Die Gewichte der erkrankten Rüben schwankten von 203—763 g und die Zuckergehalte von 14,4—19 Proz. Rübengewicht und Zuckergehalt standen dabei in keinem Verhältnis zu der Größe des Auftretens der Krankheit. Nach den Beobachtungen des Verf. erscheint daher die Ursache des Gürtelschorfes noch immer nicht aufgeklärt, so daß noch weitere Untersuchungen notwendig sind. Jedenfalls dürfte nach den bisherigen mehrjährigen Beobachtungen des Verf. feststehen, daß der Gürtelschorf keineswegs zu den gefährlichen Rübenkrankheiten zählt.

Autoreferat.

**Schmidt**, Die Milbenspinne an Stachelbeeren. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. für Land- und Forstwirtschaft. 1905. Heft 8.)

Verf. teilt mit, daß die Bryobia ribis seit mehr als 10 Jahren in Stachelbeerkulturen in der Nähe von Leitmeritz, in letzter Zeit sehr stark, auftritt. Spritzungen hatten Ende April und Ende Mai 1904 nur sehr minimale Erfolge, obwohl sehr verschiedene Lösungen und Stäube-



mittel benutzt wurden. Da weitere Untersuchungen als Wintersitz der Milbenspinne die Ritzen und Astlöcher abgestorbener Zweige und älteren Holzes ergaben, so wurde den Besitzern geraten, die Sträucher im Februar, nachdem Moos und Flechten abgekratzt, abgestorbenes Holz herausgeschnitten war, mit Bordelaiser Brühe zu bespritzen, was auch für das nächste Jahr einen vollen Erfolg brachte.

Ehrenberg (Breslau).

**Salmon, E. S.**, On the present aspect of the epidemic of the American Grosseberry-Mildew in Europa. (Journal of the Royal Hort. Society by permission of the Council. Vol. XXIX. 1905.) 9 p. des Separatabdruckes. Mit einer Kartenskizze.

Auf der Skizze ist die Verbreitung der *Sphaerotheca mors-uvae* (Schw.) B. et C. (Stachelbeermehltaupilz) in Rußland und Irland eingezeichnet.

Matouschek (Reichenberg).

**Vermell, P.**, Situation viticole et vinicole de la province d'Oran. (Progrès agric. et vitic. 1904. p. 119—121.)

In der algerischen Provinz Oran verursachte *Sphinx lineata* sehr bedeutenden Schaden. Eine so ausgebreitete Invasion, wie sie in der genannten Gegend stattfand, war um so bemerkenswerter, als man die Raupe als Feind der Rebe nicht kannte. Es wurden an einem einzigen Stocke mehr als 200 Raupen, jede von 6—10 cm Länge, beobachtet. Im Departement Alger hat man gute Resultate mit arseniksaurem Natrium erhalten; bei Oran hat man jedoch mit diesem Arsen-salze keine Erfolge erzielt. Man hat daher die Raupen gesammelt. Die großen Exemplare wurden von den Arbeitern mit einer Schere zerschnitten.

Dewitz (Geisenheim).

**Vetter**, Zum Auftreten der *Peronospora viticola* im heurigen Jahre. (Oesterreichisches landwirtschaftliches Wochenblatt. 1905. No. 32.)

Im diesjährigen Sommer verursacht die *Peronospora viticola* infolge der anhaltend feuchten und warmen Witterung erheblichen Schaden an den Trauben. Verf. schildert den Verlauf der Erkrankung, wie er sich nach neuesten Untersuchungen darstellt, und macht darauf aufmerksam, daß ungenügende und nACHlässige Bespritzung mit Kupferkalkbrühe die Krankheitsverbreitung sehr begünstigt, die sich dann nur an den Trauben, nicht an den Blättern, zeigt. Es sollte daher noch vor der Blüte des Weins zum erstenmal mit 1—1,5-proz. Bordeauxbrühe gespritzt werden, und dann zum zweitenmal unmittelbar nach der Blüte, wobei besonders auf sorgfältige Ausführung der Maßnahme gesehen werden muß.

(Bezüglich der Stärke der Bordeauxbrühe sei auf die hier bereits referierte Arbeit Ewerts, „Der wechselseitige Einfluß des Lichtes und der Kupferkalkbrühen auf den Stoffwechsel der Pflanze“ verwiesen, nach der bei einmaliger Bespritzung höchstens 1-proz., bei mehrmaliger nur eine 1/2-proz. Lösung zu verwenden ist.

Ehrenberg (Breslau).

**Kulisch**, Ueber das diesjährige Auftreten der *Peronospora* am Rebstocke, besonders auf den Trauben. (Gleichzeitig veröffentlicht in Naturwissenschaftl. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. 1905. Heft 9 und Frühling's Landwirtschaftliche Zeitung. 1905. No. 16.)

Verf. berichtet über das Auftreten der *Peronospora viticola* im Weinbaugebiet der Mosel, und stellt zunächst fest, daß es sich tatsächlich, entgegen vielfach unter den Weinbergsbesitzern verbreiteten Anschauungen, um diesen Schädling handelt, der besonders an den Gescheinen und jüngeren Träubchen auftritt. Die irrigen Anschauungen über die Krankheitsursache haben leider rechtzeitige Bekämpfung durch Bespritzung mit Kupferbrühe nicht selten unterbleiben lassen. Der Umstand, daß die Krankheit schon lange vor der Blüte vorhanden war, die Bekämpfung durch Kupferbrühe aber, wenn überhaupt, meist zu spät einsetzte, begünstigte neben dem feuchtwarmen Wetter das Fortschreiten der Krankheit sehr.

Neben der fundamentalen Wichtigkeit einer frühzeitigen ersten Bespritzung — bei einem erfolgekrönten Versuch fand sie am 2. Juni statt — der natürlich eine zweite später zu folgen hat, wird vom Verf. auf die Bedeutung guter Ausführung der Arbeit hingewiesen.

(Letztere gewinnt vielleicht durch den Umstand an Wichtigkeit, daß ein Auftreten der *Peronospora* besonders an den Träubchen, wie es Verf. für den diesjährigen Schaden an der Mosel hervorhebt, von anderer Seite als häufig mit schlechter Arbeit beim Bespritzen zusammenhängend bezeichnet wird. Der Äußerung, daß es gegenüber dem Zeitpunkt des Bespritzens von untergeordneter Bedeutung sei, „ob man auf 100 l Brühe 2 oder 4 oder 6 Pfund Kupfervitriol nimmt“, dürfte man sich kaum anschließen können, nachdem Ewert auf die Gefahren zu starker Konzentrationen der Kupferbrühe für den Weinstock aufmerksam gemacht hat.)

Ehrenberg (Breslau).

**Ross, H.,** Ueber Schädigungen des Haselstrauches und deren Bekämpfung. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jahrg. III. 1905. Heft 5. p. 49—53.)

Neben den durch ungünstige Witterungsverhältnisse schon während der Blüte verursachten Schädigungen verdienen besonders die Insektenfeinde des Haselstrauches besondere Beachtung, da dieselben durch Hervorrufung von verschiedenartigen Mißbildungen und anderen Krankheitserscheinungen den Ernteertrag bedeutend beeinträchtigen können. Die Gallmilbe *Phytoptus Avellanae* Nal. verursacht an den Winterknospen Knospengallen, die eine normale Ausbildung der Blätter verhindern. Zweige, die derartige Mißbildungen tragen, sind im Herbst oder zeitig im Frühjahr abzuschneiden und zu verbrennen. Beschädigungen der Kätzchen und Mißbildungen an denselben werden durch die Gallmücke *Contarinia (Diplosis) corylina* Fr. Löw. hervorgerufen; auch hier sind die befallenen Organe zu vernichten. Außer den an den weiblichen Blütenköpfchen vorkommenden Gallmilben kann als bedeutender Schädling noch der (Haselnußbohrer (*Balaminus nucum* L. und andere Arten) gelten, der durch die Anbohrung der Früchte und das Zerstörungswerk der Larve in denselben gefährlich wird. Das im Mai und Juni ausgeführte Abklopfen der Sträucher und Vernichten der herabgefallenen Käfer, als auch das Auflesen der frühzeitig abfallenden Früchte, die meist von der Larve des Käfers bewohnt sind, kann zur teilweisen Vernichtung des Schädlings beitragen.

Bezüglich des Ertrages kann eine richtige Sortenwahl auch hier nur Vorteile bieten, weshalb ein eventueller Ersatz der minderwertigen Waldhasel durch eine großfrüchtige Zellernuß oder durch die im Preise höher stehenden Lambertnüsse (*Corylus maxima* Mill.) empfohlen wird.

Pósch (Grinád).

**Strunk**, Bericht über eine Reise nach St. Thomé. (Tropenpflanzer. 1905. Heft 8.)

In dem Reisebericht des Leiters des botanischen Gartens in Viktoria finden sich auch Angaben über in St. Thomé auftretende Kakaoschädlinge. Weder Insekten noch Pilze, insbesondere die in Kamerun und ähnlichen regenreichen Gebieten so verhängnisvolle *Phytophthora*-Fäule, waren zu beobachten; der Kakao war von staunenswerter Gesundheit. Dagegen treten massenhaft große Erdratten auf, gegen die alle Mittel bisher erfolglos geblieben sind. Sie verursachen an den Kakaokulturen der Insel einen Schaden, der sich auf ca. 2 Millionen Mark stellen dürfte.

Ehrenberg (Breslau).

**Goury, G. et Guignon, J.**, Les insectes parasites des Renouculacées (Feuille des jeunes naturalistes. Sér. IV. T. XXXIV. Paris 1904. p. 112—118, 134—142. Avec fig.)

In der Fortsetzung ihrer interessanten Studie über die parasitischen Insekten der Familie der Ranunkulaceen geben die Verff. eine Aufzählung der hauptsächlichsten Zooecidien von den Arten der Gattungen *Anemone*, *Aquilegia*, *Caltha*, *Clematis*, *Helleborus*, *Ranunculus* und *Thalictrum*.

Houard (Paris).

**Goury, G. et Guignon, J.**, Les insectes parasites des Berbéridées. (Feuille des jeunes naturalistes. Sér. IV. T. XXXIV. Paris 1904. p. 238—243, 253—255.)

Unter den zahlreichen Parasiten des Sauerdorns nennen Verff. als Erreger der Cecidien: *Lasioptera berberina*, *Cecidomyia* sp., *Eriophyes curvatus* und *Trioza Scottii*.

Houard (Paris).

**Pierre, Abbé**, L'éclosion des oeufs de *Lestes viridis* Van der Lind. (Annal. de la soc. ent. de France. T. LXXIII. Paris 1904. p. 477—484. Pl. IV.)

In Fortsetzung früherer Untersuchungen über die Biologie des seltenen Netzflüglers *Lestes viridis* untersucht der Verf., wie sich die Entwicklung der jungen Larven gestaltet, deren Organisation mit einem Leben an der Luft unverträglich ist. Er kommt zu folgenden Schlüssen: 1) Der junge *Lestes* kriecht in zwei Abschnitten aus: das Ei, das nicht unter Wasser ist, entleert eine Larve, die ins Wasser gelangt, noch eingehüllt in das Amnionhäutchen; auf der Oberfläche des Wassers schlüpft die Larve aus ihrer Hülle durch die gegen das Wasser gerichtete Rückseite und schwimmt in dem flüssigen Medium, um sich dort weiter zu entwickeln. 2) Das Ausschlüpfen aus der Hülle wird durch verschiedene Dreh- und Verlagerungsbewegungen vorbereitet. 3) Dieses Auskriechen findet nicht in feuchter Erde statt; Wasser ist dazu notwendig. 4) Während des Auskriechens bleibt die Hülle unbeweglich auf der Oberfläche des Wassers. 5) Die günstigsten Bedingungen zum Auskriechen sind eine warme und feuchte Luft und der Wachstumszustand der Zweigbildung. 6) Zu keiner Zeit ist die Larve mit Luft in unmittelbarer Berührung. 7) Das Auskriechen findet statt im März und April.

Houard (Paris).

**Marès, R.**, Une invasion de chenilles de *Sphinx* dans le vignoble du département d'Alger. (Rev. viticulture. T. XXI. 1904. p. 672—673.)

Zweite Abt. Bd. XV.

42

In den bergigen Weingebieten des Departement Alger war im Mai eine starke und bisher ungekannte Invasion von Sphinxraupen zu verzeichnen. Gewöhnlich ernähren sich diese Raupen von Chenopodiaceen, welche auf den Hochplateaus wachsen. Die Schmetterlinge wurden vom Sirocco herbeigeführt. Die Raupen fraßen an den Reben nicht nur die Blätter und Trauben, sondern auch die Knospen ab. Marès und Vivet haben Versuche mit arseniksaurem und arsensaurem Kupfer angestellt, indem sie 120–150 g auf 1 hl verwandten. Die letztere Verbindung verbrennt etwas mehr die Blätter, ist aber etwas wirksamer. Die erwachsenen Raupen sterben von dem Mittel nicht, wohl aber die jungen. Dieses Bekämpfungsmittel scheint das beste zu sein. Denn in anderen Gegenden hatten Kinder die Raupen gesammelt, oft 10–12 l am Tage. Aber trotz des Sammelns schien die Zahl der Raupen in stark mit Raupen besetzten Weinbergen nicht abgenommen zu haben. Im ganzen haben die Tiere nur stellenweise großen Schaden verursacht.

Dewitz (Geisenheim).

**Eckstein**, *Aradus cinnamomeus* Panz., die Kiefern-rindenwanze. (Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. 1905. Heft 9.)

Nach Erwähnung verschiedenartiger Nadelverfärbungen bei der Kiefer geht Verf. auf das Auftreten der Kiefern-rindenwanze ein, das sich stets durch ein fahles Gelbgrün der Gesamtbenadelung bereits aus der Entfernung anzeigt.

Nach genauer Beschreibung folgen Angaben über die Lebensweise des wegen seiner ausgesprochenen Lichtscheu unter Rindenschuppen lebenden Schädling. Durch Einstechen seiner kurzen Stechborsten und Aussaugen saftführender Rindenschichten ruft er wulstige Wucherungen des Splints hervor, die ein charakteristisches Aufplatzen der Rinde in Längs- und später Querspalten zur Folge haben. Beide Arten von Spalten geben neben der Verfärbung der Nadeln ein untrügliches Kriterium für die Anwesenheit der Wanze.

Das nur sporadische Massenvorkommen des Tieres — dieses selbst wurde bisher in den verschiedensten Gegenden Deutschlands, in Finnland, auch bei Petersburg festgestellt — ist stets an armen, öden Sandboden gebunden, wofür Verf. eine Ursache nicht anzugeben vermag.

Vor natürlichen Feinden ist die Kiefern-rindenwanze durch ihre Schutzfärbung, ihren versteckten Aufenthalt, wie durch andere Umstände ziemlich gesichert. Als Abwehrmaßregeln kommt besonders Hebung des Allgemeinbefindens der Kiefer durch Bodenlockerung und Düngung in Betracht. Bereits absterbende Bäume sind der Axt verfallen und alsbald zu verbrennen, nur unter besonderen Umständen, z. B. auf notwendig zu deckendem Flugsande verwende man zur direkten Bekämpfung Bestreichen oder Bespritzen mit Kalkmilch oder Petroleumemulsion. Das Wichtigste indessen dürfte Ersatz der kränkenden Kiefern durch *Pinus banksiana* sein, die wegen ihrer völlig glatten Rinde den Wanzen keine Gelegenheit zu erstem Unterschlupf bietet, und daher von ihnen frei bleibt.

Ehrenberg (Breslau).

**Knoche**, Zur Generationsfrage der Borkenkäfer. (Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. 1905. Heft 9 und 10.)

Die Abhandlung bringt vorwiegend eine eingehende Behandlung der zwischen Verf. und Nüsslin bezw. Eichhoff schwebenden Streit-

fragen bezüglich der Borkenkäfer und ihrer Generationen, worauf hiermit verwiesen sei. Von dem dabei verwerteten Beobachtungs- und Versuchsmaterial sei folgendes erwähnt:

Es ist bei *Tomicus stenographus*, *typographus*, *suturalis* und wahrscheinlich auch noch bei anderen Tomiciden unmöglich, beim Entstehen von „Ausfluglöchern“ zu sagen, ob bereits Jungkäfer ausflogen oder nicht.

Die vorzeitige Auslösung der Geschlechtsreife zeigte sich bei *Hylesinus piniperda* von verhängnisvollem Einfluß auf die Käfer.

Die Zwischenfraßzeit zwischen zwei Bruten in den Trieben ist zwar nicht unbedingt nötig, aber unter natürlichen Verhältnissen, wo die Tiere zwanglos handeln können, durchaus als normal zu bezeichnen.

Triebnahrung begünstigt die Körperzellen gegenüber den Geschlechtszellen, kräftigt also das ganze Tier. Fraß an Brutknüppeln dagegen fördert die Geschlechtszellen, und zwar erheblich, aber auf Kosten der Körperzellen, schwächt demnach den ganzen Organismus.

Je weiter die Jahreszeit fortschreitet, desto weniger werden alte Mutterkäfer ohne Zwischenfraßpause brutfähig. Ehrenberg (Breslau).

**Fuchs, G.**, Beschreibung der Larve des *Otiorrhynchus sensitivus* Scop. syn. *planatus* Herbst. (Naturw. Zeitschr. f. Land- und Forstw. Jahrg. III. 1905. p. 210—212.)

Der Lappenrüssler *Otiorrhynchus sensitivus* (Scop.) wird an Fichte, Weymouthskiefer und Douglasia schädlich, namentlich macht sich der Käfer durch Knospenausfressen unangenehm bemerklich. Die zur sehr wünschenswerten praktischen Erkennung der Larven dienlichen Merkmale werden vom Verf. genau angegeben, namentlich Wert auf die Bildung des Kopfes und der Mundteile, sowie die Beborstung des Rumpfes gelegt. Die Larve wird 13—16,5 mm lang und bis 6 mm dick; zur Verpuppung richtet sie sich 10—15 cm unter der Bodenoberfläche eine ziemlich große, ovale Höhlung her, deren Wände sie durch Spinnfäden festigt. Jacobi (Tharandt).

**Clausen**, Ein gefährlicher Schädling der Kohlpflanzen und Steckrüben während dieses Sommers. (Landw. Wochenblatt für Schleswig-Holstein. 1905. No. 32.)

Verf. behandelt das durch den trockenen Sommer in Schleswig-Holstein sehr begünstigte Auftreten der Rübenblattwespe, *Athalia spinarum*, und empfiehlt als einzig im großen anwendbares Bekämpfungsmittel tiefes Umpflügen des Landes im Herbst nach der Ernte. Ehrenberg (Breslau).

**Eppner, K.**, Ueber einige Fälle von Schälbeschädigungen durch das Eichhörnchen (*Sciurus vulgaris*). (Naturw. Zeitschr. f. Land- und Forstw. Jahrg. III. 1905. p. 112—120. 3 Abb.)

In dem forstwirtschaftlichen Schuldkonto des Eichhörnchens wird gewöhnlich der Posten „Entrindungen“ zu niedrig eingestellt, was der Verf. unter Beibringung neuen Materials mißbilligt. Als auffallend wird zunächst hervorgehoben, daß die Ringelungen nur in unregelmäßigen Zeiträumen und nur an gewissen Stellen stattfinden, was Verf. mit dem verschiedenen Eintritt der Vegetationstätigkeit der Baumindividuen erklärt; vermutlich benagt das Eichhorn dann diejenigen Stämme zunächst, welche infolge eingetretener Saftströmung leichteres Ablösen der Rinde

gestatten. In dem näher besprochenen Falle waren im Sommer in einem Fichtenstangenorte eine größere Anzahl von Bäumen vom Gipfel abwärts teils ganz rot, teils mit noch wenigen grünen Aesten im Kronenteile, nachdem der Besitzer schon über 100 mehr oder weniger dürre Stangen herausgenommen hatte. Die angegriffenen Stämme zeigten 3—8 m über dem Boden, und zwar nie unter dem ersten Astquirle, teils ein ringförmiges, spiralig verlaufendes Fehlen der Rinde, teils entrindete Stellen von verschiedener Ausdehnung. Diese 1—2mal den Stamm umkreisenden Spiralen sind 2 bis höchstens 5 cm breit, müssen naturgemäß oberhalb dem Kambium die Ernährung nehmen, somit die distalen Teile zum Absterben bringen. Eine Auswahl traf das Tier insofern, als sich die Schälungen auf Bäume bis zu 40 Jahren und auf die stärkeren Stammteile über 3 cm Durchmesser beschränkten, die dünnere Strecke der Krone sowie das ganze Astwerk unberührt ließen. Die reichlich beigemischten Weißtannen von gleichem Alter zeigten sich völlig verschont (Ref. fand unlängst in einem ca. 50jährigen Mischbestande von Fichten und Tannen eine aus anderem Grunde gefällte Tanne im äußersten Wipfel typisch geringelt.) Das Eichhorn scheint Lärchen den Fichten bedeutend vorzuziehen, verübt aber den Schaden an ersteren in etwas anderer Weise, indem die Ringelung in schmalen Bändern fast gar nicht vorkommt, vielmehr die Rinde auf große Strecken hin rings um den Stamm herum vollständig abgelöst wird. Das in Norddeutschland häufige Schälen der Kiefer vermißt man in Bayern fast völlig.

Jacobi (Tharandt).

**Koch, Das Eichhörnchen (*Sciurus vulgaris* L.) als Waldschädling.** (Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- u. Forstwirtschaft. 1905. Heft 7.)

Verf. schildert im bayerischen Forstamt Rosenheim vorgekommene Schädigungen. Dabei handelte es sich nicht um Schälbeschädigungen, oder um Abbeißen der Endtriebe an den Zweigen älterer Fichten, sondern um die weitaus schädlichere Art des Abbeißen der Terminal- und oberen Seitentriebe jüngerer Fichten und Tannen. Verf. erwähnt noch, daß die in Rede stehende Schädigung bei mangelnder Aufmerksamkeit leicht menschlichen Händen zugeschrieben wird, und daß der Eichelhäher (*Garrulus glandarius*) in den untersuchten Fällen nicht als Ursache in Frage kommen kann.

Ehrenberg (Breslau).

## Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Zangenmeister, W., Der Einfluß der Bakterien auf die molekulare Konzentration des Nährbodens.** (Schriften der physikalisch-ökonomischen Gesellschaft zu Königsberg i. Pr. Jahrg. XLV. 1904. p. 84.) 4°.

Die Tatsache, daß bakterielle Exsudate einen anderen Gefrierpunkt haben als andere, welche letztere dem Blute isotonisch sind, gab Veranlassung, die molekulare Konzentration der Nährböden zu verfolgen. Es zeigte sich, daß eine Reihe untersuchter Organismen (Streptokokken, Staphylokokken, *Bacterium coli*), sofern sie zu reichlicher Entwicklung kommen, die molekulare Konzentration steigern. Im Harne wird

die Menge der neutralen, nicht ionisierten Moleküle durch die Bakterienwirkung verringert. Die Beachtung der molekularen Konzentration des Nährbodens ist außerdem für die Biologie der Mikroorganismen von Wichtigkeit.  
Matouschek (Reichenberg).

**Czaplicki**, Die Homogenisierung der Milch als Nährboden für Bakterien. (Milchwirtschaftl. Centralblatt. 1905. Heft 10.)

Verf. weist auf die Verschiedenheit der Angaben über das Gedeihen einzelner Bakterienarten in Milch hin, wofür nach Serkowski nicht die wechselnden Eigenschaften der Bakterien, sondern die veränderliche Zusammensetzung der Milch verantwortlich zu machen ist. Bei Prüfung von pasteurisierter, pasteurisierter verdünnter und sterilisierter Milch mit verschiedenen Bakterien erwies sich die pasteurisierte verdünnte Milch als bester Nährboden.

Ein Milchpulver wurde weiter in verschiedenprozentiger Lösung als Nährboden geprüft, zeigte jedoch beim Kochen den Uebelstand der Satz-bildung.

Bezüglich eines bis zur Keimfreiheit führenden Pasteurisierens werden dann Ratschläge gegeben, und zum Schluß nochmals auf die Bedeutung verdünnter Milch als besserer Nährboden hingewiesen, ein Umstand, der auch die Milchfälschungen eine neue Seite gewinnen läßt.

(Angaben über Paralleluntersuchungen, wie überhaupt eingehendere, auf zahlenmäßige Feststellungen zurückgehende Mitteilungen fehlen in der Arbeit.)  
Ehrenberg (Breslau).

**Senft, Emanuel**, Mikroskopische Untersuchung des Wassers mit Bezug auf die in Abwässern und Schmutzwässern vorkommenden Mikroorganismen und Verunreinigungen. 196 p. 180 Fig. in 86 Textabbildungen und 220 Fig. auf lithograph. Tafeln. Wien (Josef Šafář) 1905. Preis 11 Kronen 50 Heller österr. Währung.

Der allgemeine Teil handelt vom Mikroskope, von den zu Wasseruntersuchungen nötigen Nebenapparaten, vom Sammeln, Aufbewahren und Untersuchen der Wasserproben, von der Verfertigung mikroskopischer Präparate aller Art, von den zur Untersuchung nötigen mechanischen und chemischen Hilfsmitteln und von den saproben Organismen nebst der Selbstreinigung des Wassers. Im speziellen Teile behandelt Verf. die anorganischen und organisierten (pflanzlichen und tierischen) Körper, die im Wasser vorkommen; dieselben werden sehr instruktiv und hübsch auf den lithographierten Tafeln abgebildet. Es folgt ein Literatur- und Sachverzeichnis. — Das Werk wird ein Handbuch für den Arzt, Hygieniker und Wasseringenieur werden, da es nicht nur für Anfänger, sondern auch für den Fachmann geschrieben ist. Mit Verständnis hat Verf. alles praktisch Erprobte und Bekannte zusammengefaßt und die Abbildungen verdienen nur vollstes Lob.

Matouschek (Reichenberg).

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Sénéquier et le Baron**, Les stériliseurs Otto, applications pratiques de l'ozone au traitement de l'eau et de l'air. (Revue générale de Chimie pure et appliquée. T. VIII. No. 13.)

Man kann Wasser mit geringen Mengen ozonreicher Luft ebenso gut sterilisieren wie mit größeren Mengen ozonärmerer Luft. Im ersten Falle (über 6 g im Kubikmeter) genügt 1 Volumen Ozon auf 10 Volumina Wasser, im zweiten Falle (1—2 g im Kubikmeter) müssen gleiche Volumina Wasser und Ozon angewandt werden. Zu berücksichtigen ist weiterhin die Menge der verunreinigenden Substanzen im Wasser. Nach dem Daltonschen Gesetz wird aus einem konzentrierteren Ozon-Gasgemisch vom Wasser mehr Ozon absorbiert; es genügen daher 0,6 g Ozon pro Kubikmeter Wasser zu ausreichender Sterilisierung, während bei weniger konzentrierten Lösungen 1—2 g zu demselben Zwecke berechnet werden müssen. Diese Theorien Ottos sind durch die Praxis bestätigt worden.

Notwendig zu einem vollen Erfolge ist die innige Mischung von Wasser und ozonisierter Luft. Sie wird durch die verschiedenartigsten Methoden erreicht. Das einfachste, aber auch erfolgloseste Verfahren ist das englische, bei dem das unreine Wasser durch einen Cylinder gebraust wird, an dessen unterem Ende der Ozonstrom eintritt, um sich nach oben zu verteilen. — Bei der modifizierten Gay-Lussacschen Säule ist eine ziemlich hohe Kiesfilterschicht zwischengeschoben, sonst ist ihr Prinzip das gleiche. — Die Tindallsche Methode läßt das Wasser in hohem Cylinder durch eine Reihe durchlöcherter, übereinander stehender Kästen fließen, durch die auch das Ozon seinen Weg von unten nach oben nimmt. Häufige Verstopfungen dieser Löcher sind die unangenehme Beigabe der Tindallschen Methode. — Das Ottosche Verfahren führt einen selbständigen Mischer (émulseur) ein, der entweder allein oder in Verbindung mit der Gay-Lussacschen Säule angewandt wird. Das Ozon tritt durch ein Seitenrohr in den Mischer ein und wird sofort so intensiv mit dem Wasser vermischt, daß eine momentane Sterilisierung erreicht wird. Die Wirkung des Ozons kann noch dadurch erhöht werden, daß es unter Druck gesetzt wird. Am zweckmäßigsten wird hierzu das natürliche Geländegefälle zur Hilfe herangezogen. — Die Stadt Nizza wird mit Ozonisatoren nach Ottoschem System versehen.

Inzwischen ist das System auch in die Hauspraxis übergeführt worden. So gibt es einen „électro-stérilisateur domestique“. Oberhalb des Zapfhahnes der Wasserleitung befindet sich ein Metallkasten, der einen Transformator, einen Ozonisor und einen Kommutator enthält. Das Öffnen des Wasserhahnes schließt einen Kontakt, der den Ozonerzeuger in den Stromkreis zieht und in Tätigkeit setzt. Das entstehende Ozon wird durch ein Rohr dem Mischer zugeleitet, der in die Wasserleitung eingebaut ist. Dort wird es von dem stürzenden Wasser sofort mitgerissen und gemischt. Zusammen mit dem sterilisierten Wasser verläßt es den Hahn.

Ein anderes Modell, das zur Aufstellung auf der Straße bestimmt ist und Brunnenform hat, enthält Vorrichtungen zur Trennung von Wasser und Ozon nach vollendeter Sterilisierung. Der Apparat verbraucht 60—70 Watts und kann 250 l sterilisierten Wassers pro Stunde liefern.



Die Kombination von Gay-Lussacscher Säule und Mischer ist in einem Modell durchgeführt, das auf der chirurgischen Abteilung des Broca-Hospitals in Paris in Gebrauch ist. Der sehr exakt gebaute Apparat gewährleistet eine dreimalige Sterilisierung des Wasserstromes und liefert einwandsfreies Wasser, das durch eine sinnreiche Regulierung des Ozonverbrauchs entweder nach wenigen Augenblicken ozonfrei ist oder reichliche Mengen des Gases enthält.

Verff. zitieren sodann die Untersuchungen von Ogier und Bonjean, die ergaben, daß sämtliche pathogenen Bakterien abgetötet werden und nur die Sporen des Heubacillus und des *B. mesentericus*, die auch dem Kochen Widerstand leisten, sich als resistent erweisen. Auch die chemischen Veränderungen des Wassers sollen geringfügig sein; selbst die organischen Bestandteile erleiden kaum nennenswerte Veränderungen. Gleich günstige Resultate, besonders in bakteriologischer Hinsicht, erzielte Bender mit dem Apparat des Broca-Hospitals.

Auch die Ozonisierung der Luft zu Heil- und Desinfektionszwecken wurde in Angriff genommen. Zu Inhalationszwecken dient ein Apparat nach Angaben Ottos, der im wesentlichen aus einem hochgespannten Transformator, einem Ozonisator und einem Motor mit Ventilationstrichter (nach Art der Schalltrichter des Phonographen) besteht. Zwei Unterbrecher regulieren die Tätigkeit des Ozonisators und des Ventilators. In wenigen Minuten gelingt es, einen Saal von 100 cbm Luftraum mit der therapeutisch wirksamen Dosis Ozon zu erfüllen.

Zu Sterilisierungszwecken ist ein anderer, kleiner Apparat gebaut worden: mittels Wasserstrahlluftpumpe wird unter einer Glocke, in der sich die zu desinfizierenden Gegenstände, Kompressen etc., befinden, ein Vakuum erzeugt. Darauf wird der Hahn zum Ozonisator geöffnet und das Ozon angesaugt. Die Wirkung soll eine sehr gute sein.

Seligmann (Berlin).

**Baumann, Ernst,** Ueber die Konservierung der Milch durch Wasserstoffsperoxyd. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 23.)

Die Abtötung der Keime — Zählung auf Gelatineplatten — in der Milch bei steigender Menge von Wasserstoffsperoxyd findet nicht in ganz gesetzmäßiger Reihenfolge statt; immerhin hat stärkerer  $H_2O_2$ -Zusatz auch eine erheblichere Keimverminderung zur Folge, und die von selbst auftretende Gerinnung, die bei nicht vorbehandelter Milch nach 24 Stunden einsetzt, wird um mehrere Tage verzögert. Die bei Zimmerwärme aufbewahrte  $H_2O_2$ -Milch birgt stets erheblich mehr Keime als die bei 50° gehaltene. Erhitzung der Milch auf 50°, ohne  $H_2O_2$ -Zusatz, hat ungefähr den gleichen Einfluß wie die Beigabe von  $H_2O_2$  bei Zimmerwärme. Auch bei Zusatz bis zu 2 Prom.  $H_2O_2$  zur auf 45° erwärmten Milch tritt keine völlige Sterilisierung ein. Wenn sterilisierte Milch mit Typhus-, Cholera- und Ruhrkeimen beschickt wird, so gelingt deren Verminderung und Abtötung durch nach einiger Zeit in geringen Mengen (0,18—0,45 Prom.) zugesetztes  $H_2O_2$ . Ferner vermag 0,35-prom.  $H_2O_2$  Tuberkelbacillen in der Milch zu vernichten.  $H_2O_2$ , das in geringeren Mengen als 0,54 Prom. zugesetzt wird, wird in der Milch völlig in unschädliches Wasser und Sauerstoff zerlegt. Darüber hinaus war es nach Beendigung der Versuche immer noch nachweisbar und hielt sich tagelang. Erwärmung auf etwa 50° begünstigt die Zerlegung des  $H_2O_2$ . Lediglich die Bakterien verursachen die Spaltung des  $H_2O_2$ , denn in der erhitzten bakterienfreien Milch tritt sie nicht ein. Die Enzyme der Milch vermögen für sich allein geringe Mengen von  $H_2O_2$  in demselben

Maße zu reduzieren wie bakterienhaltige Milch. In der keimarmen Milch werden die wenigen, nach  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Zusatz noch vorhandenen Keime in den nächsten Tagen abgetötet; sie hält sich wochenlang unzersetzt. In der Marktmilch vermehren sich dagegen die nach  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Beigabe überlebenden Keime in der nächsten Zeit sehr stark. In der mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  vermischten Marktmilch verschwindet das noch nachweisbare  $\text{H}_2\text{O}_2$  durch Milchbakterienimpfung erst nach einigen Tagen. In der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Milch wird die Gewinnung gehemmt und die Pepsin-Salzsäureverdauung beschleunigt. — Für die Praxis empfiehlt es sich, das Wasserstoffsuperoxyd der möglichst sauber entnommenen Milch möglichst sofort beizumischen.

Georg Schmidt (Berlin).

**Hirsch, Julius**, Der Einfluß von Formaldehyd auf Vermehrungsenergie und Gärungsenergie, sowie auf die Generationsdauer verschiedener Hefearten. (Mitt. d. österr. Versuchstation u. Akad. f. Brauindustrie in Wien. — Allg. Zeitschr. f. Bierbr. u. Malzfabr. 1905. No. 32 u. ff.)

Verf. gibt zunächst eine Uebersicht der früheren Arbeiten über die Einwirkung des Formaldehyds auf Mikroorganismen.

Das zur Anwendung für seine eigenen Versuche gebrachte Formaldehyd war das käufliche, ca. 40-proz. technische Formalin, dessen Gehalt an Aldehyd von 8 zu 8 Tagen bestimmt wurde.

Zunächst wurde in einigen Versuchen konstatiert, daß bei  $25^\circ \text{C}$  die zum Einstellen der Gärtätigkeit und Vermehrung bei den einzelnen überprüften Heferassen notwendige Formalinmenge zwischen 0,3 und 0,5 ccm einer ca. 1-proz. Formalinlösung liegt, wobei als Nährflüssigkeit 100 ccm Bierwürze verwendet wurde. Um konstante, überall nachkontrollierbare Resultate zu erhalten, war es indessen notwendig, von einer Nährlösung von chemisch bekannter Zusammensetzung auszugehen und wurde eine 10-proz. Saccharose-Hefewasserlösung benutzt.

Je 100 ccm dieser Nährlösung wurden in die zum Anstellen der Gärung bestimmten Kolben abgemessen und sterilisiert. Der Inhalt wurde auf seine genaue Zusammensetzung quantitativ untersucht. Die zur Anwendung kommenden Hefen waren vor der Aussaat stets gegen 24 Stunden bei  $25^\circ \text{C}$  in steriler Bierwürze gezüchtet. Die Behandlung mit Formalin geschah in dieser Weise: Die Hefe wurde ca. 1 Stunde bei der Temperatur von  $20^\circ \text{C}$  mit der entsprechenden Formalinmenge in einem sterilen Fläschchen abwechselnd geschüttelt und sedimentieren gelassen, um möglichst alle Zellen gleichmäßig damit zu behandeln. Nun wurde die Hefe in der Moskowitzschen Eprouvette rasch ausgeschleudert, die Wasseraufschlemmung gemacht und nach genügendem Schütteln und Verdünnen die Aussaat einer bestimmten Zellenanzahl vorgenommen. Die Zählung der Hefezellen geschah mit Hilfe des Zeiss'schen Hämatimeters, und zwar wurde das Mittel aus 8 Zählungen genommen und daraus jene Flüssigkeitsmenge berechnet, welche notwendig ist, um pro 1 ccm Verdünnung 200 Zellen zu erhalten. Nach der Impfung der Kolben wurden dieselben verschlossen und der eine Teil der Versuche im Thermostaten bei  $25^\circ \text{C}$ , der andere Teil im Eiskasten (Temperatur zwischen  $3$  und  $5^\circ$ ) beobachtet. Während des Verlaufes der Gärung wurde die Flüssigkeit jeden Tag kräftig durchgeschüttelt. Die Kölbchenreihe bis  $25^\circ \text{C}$  wurde nach 4, die anderen im Eiskasten nach 8 Tagen untersucht.

Die folgenden Hefen kamen zur Verwendung: Hefe Froberg.

Hefe Saaz, Hefe Logos, *Sacch. ellipsoideus* Hansen (= *S. ellips.* I) und *Sacch. validus* Hansen (= *S. Past.* III).

Das Ergebnis der Analysen war das folgende: Die Saccharomyceten verhalten sich bei Behandlung mit Formaldehyd verschieden bezüglich der Gärungs- und Vermehrungsenergie und des Inversionsvermögens. Was zunächst die Vermehrungsenergie anbelangt, zeigte sich, daß mit Ausnahme von Hefe Saaz bei 3° C sämtliche Saccharomyceten bei Anwendung der geringsten Aldehyddosen angereizt wurden. Die Zellen von Hefe Saaz und *Sacch. ellipsoideus* waren früher abgetötet als *Sacch. validus* und diese wieder rascher als Froberg und Logos. Auch die Gärungsenergie zeigte Verschiedenheiten. Im allgemeinen wurde das Gärungsmaximum erst bei bedeutender Abnahme der Vermehrungsenergie erreicht und fiel das Ende der Gärung, wenn nicht etwas früher, mit dem Abtöten der Zellen zusammen. Was die Inversion betrifft, sah Verf. in allen Fällen, sobald keine Gärung und Vermehrung vorhanden war, ein Anwachsen derselben infolge Invertinausscheidung. Der reduzierenden und etwas invertierenden Wirkung der angewandten Formalinmengen wurde in allen Beispielen genau Rechnung getragen. Bei Kellertemperatur wurde eine geringe Gärungs- und Vermehrungsenergie und ein Fallen des Inversionsmaximums beobachtet, um schließlich konstant zu bleiben.

Ferner fand Verf., daß zur Abtötung der Zellen von Froberg und Logos 4,536 mg Aldehyd, von *Sacch. validus* 3,139 mg Aldehyd, von Saaz und *Sacch. ellipsoideus* 2,864 mg Aldehyd für 100 ccm Bierwürze notwendig sind.

Was die Temperatur in Bezug der Dauer der Einwirkung des Antiseptikums anbelangt, untersuchte Verf. Hefe Froberg und fand, daß bei 18° C eine Einwirkungsdauer von 30 Min. und bei 25° C bzw. 37° C von 45 bzw. 35 Min. notwendig ist, um sämtliche Zellen abzutöten.

Die Versuche der Generationsdauerbestimmung wurden in folgender Weise ausgeführt:

Zunächst wurde die 24 Stunden alte Bodensatzhefe, hiervon 2 Tropfen, mit 1 ccm Formalin entsprechend einem bestimmten Gehalte an Aldehyd 1 Stunde bei 18° C digeriert; dann wurde von der ausgeschleuderten Hefe eine Wasseraufschlemmung gemacht, eine Viertelstunde geschüttelt und schließlich eine Oberflächenkultur auf Würzelatine in einer Böttcher'schen Kammer gezüchtet. Die Kammern wurden bei 20° C gestellt und immer nach 24 Stunden gezählt.

Es ging aus diesen Versuchen hervor, daß die Kulturhefen widerstandsfähiger sind als die übrigen und daß sogar bei geringer Formalinbehandlung der Zellen die Generationsdauer eine kleinere ist als ohne jede Behandlung. Natürlich steigt mit der Dosis des angewandten Antiseptikums die Generationsdauer.

In Betreff der Einzelheiten der verschiedenen Versuche und der Tabellen verweisen wir auf die Originalarbeit, welche auf Vorschlag des Herrn Prof. Dr. Prior unternommen wurde.

Klöcker (Kopenhagen).

**Passerini, N.,** Sopra la sterilizzazione dei mosti mediante i solfiti in rapporto con l'uso dei fermenti selezionati. (Atti d. Accademia dei Georgofili in Firenze. Vol. LXXXII. 1904. p. 244.)

— Su la fermentazione con mosto sterilizzato mediante

solfitie con fermenti adattati al mezzo solforoso. (Ebenda, Vol. LXXXIII. 1905. p. 150.)

Als Resultat mehrerer Versuche findet Verf., daß 8—10 g  $\text{KHSO}_3$  pro Hektoliter Most die richtige Dosis darstellen, um die durch gewöhnliche Kellerhefen hervorgebrachte Gärung 6—8 Tage zurückzuhalten. Mittlerweile kann die schwefelangepaßte Reinhefe die Hauptgärung zu Ende führen. Verf. schlägt folgendes Verfahren vor:

2—3 Tage vor dem Keltern werden 3 dz Trauben gelesen, daraus wird der Most abgekeltert, in einem Kessel gekocht und nach Erkältung mit 4—5 l Reinhefe geimpft. Ist die Gärung im Gange, so setzt man innerhalb 24 Stunden 600 ccm einer 10-proz.  $\text{KHSO}_3$ -Lösung allmählich hinzu. Nach weiteren 24 Stunden gibt man die gärende Flüssigkeit dem Hauptmoste, 100 dz mit 1 kg feinzerpulvertem  $\text{KHSO}_3$ , hinzu. Es muß sofort tüchtig umgerührt werden.

Nach dieser Methode hat Verf. im Sommer 1904 ausgedehnte Kellerversuche ausgeführt. Der fertige Wein war klarer und tiefer gefärbt als der Kontrollwein, schmeckte und roch besser, enthielt mehr Alkohol, weniger fixe und flüchtige Säure, weniger Extrakt. Das Schwefeldioxyd verflüchtigte zum Hauptteil während der Hauptgärung; im Mai fand man davon noch Spuren, im Juni gar nichts mehr. Verf. gibt der Bisulfitmethode vor der einfachen Reinhefemethode den Vorzug.

Pantanelli (Rom).

Ferle, Beizversuche, ausgeführt an Weizen. (Fühlings Landwirtschaftliche Zeitung. 1905. Heft 19.)

Verf. beschreibt einige Beizversuche, welche die nachstehend tabellarisch aufgeführten Ergebnisse zeitigten:

Behandlung:	Keimfähigkeit:	Keimungs- energie:	Anbau- ergebnis:
	Proz.	Proz.	
ungebeizt	96	61	stark brandig
5-stünd. Einwirkung 0,05-proz. Formalinlösung	95	78	brandig
10-stünd. Einwirkung 0,05-proz. Formalinlösung	94	83	rein
6-stünd. Einwirkung 2-proz. Kupfervitriollösung, mit Wasser ausgewaschen	84	37	rein
6-stünd. Einwirkung 2-proz. Kupfervitriollösung, mit 4-proz. Kalklösung und Wasser ausgewaschen	90	42	brandig
12-stünd. Einwirkung 2-proz. Kupfervitriollösung mit Wasser ausgewaschen	80	38	rein
12-stünd. Einwirkung 2-proz. Kupfervitriollösung, mit 4-proz. Kalklösung und Wasser ausgewaschen	91	38	rein

Versuche mit dem Jensenschen Heißwasserverfahren mißglückten.

(Die benutzten Mengen Kupfervitriol erscheinen recht hoch. Weiter ist die Verwendung von Parallelbestimmungen zu vermissen. Endlich wäre u. a. Berücksichtigung des für die landwirtschaftliche Praxis besonders geeigneten Blomeyerschen Verfahrens — 3 Minuten langes Eintauchen des in Körben befindlichen Saatguts in 1-proz. Kupfervitriollösung unter Abschöpfen und Beseitigen der nach wiederholtem Umrühren obenauf schwimmenden Körner — vielleicht wünschenswert gewesen.)

Ehrenberg (Breslau).

**Passerini, N.**, Esperienze per combattere la peronospora della vite. (Atti d. Accademia dei Georgofili in Firenze. Vol. LXXXIII. 1905. p. 145.)

Nach Martini (1903) sollte man der Kupferkalkbrühe etwas Alaun, nach Menozzi (1904) kleine Mengen Eisensulfat zusetzen. Verf. hat beide Verfahren nachgeprüft und gefunden, daß die Wirksamkeit durch die genannten Zusätze kaum erhöht wird. Wohl aber scheint Alaun die Adhäsion der Brühe an das Blatt wesentlich zu erleichtern. Ferrosulfat soll nur in geringerem Grade in demselben Sinne wirken.

Pantanelli (Rom).

**Moritz**, Was kann und soll der deutsche Winzer zur Bekämpfung der Reblauskrankheit tun? (Deutsche Landwirtschaftliche Presse. 1905. No. 66.)

Verf. hebt die große Bedeutung, ja, die absolute Notwendigkeit des Mitarbeitens der einzelnen Winzer zur Bekämpfung der Reblausplage hervor. Eingehende Besprechung der makroskopisch bemerkbaren Krankheitserscheinungen folgt, ebenso Hervorhebung der wichtigeren Gesetzesbestimmungen über die vorliegende Frage, und kurze Schilderung der Entwicklung des Schädling.

Ehrenberg (Breslau).

**Cantin, G.**, Sur la destruction de l'oeuf d'hiver du Phylloxera par le Lysol. (Comptes rendus de l'Acad. des sciences. T. CXXXIX. Paris 1904. p. 1232—1233.)

Verf. teilt die Resultate seiner seit 4 Jahren an einer jungen Weinpflanzung im Departement Cher gemachten Erfahrungen mit. Die Stecklinge wurden zuvor mit einer 1-proz. Lysollösung getränkt. Weder Knotigkeit noch irgend ein Insekt wurden an den Wurzeln gefunden.

Houard (Paris).

**Hollrung**, Zur Bekämpfung der Eichenkolbenlaus (*Phylloxera coccinea* Heyd.). (Deutsche Landwirtsch. Presse. 1905. No. 59.)

Verf. schildert die Kennzeichen des Auftretens der unserer Reblaus nahe verwandten Eichenkolbenlaus und gibt in der Abkochung von 1,25 kg Quassiaholzspänen, 2,50 kg Seife, 5—10 l Wasser, später auf 100 zu verdünnen, ein geeignetes Bekämpfungsmittel. Dies ist jedoch nur an sonnenfreien, doch regenlosen Tagen oder nach Sonnenuntergang anzuwenden, da sonst leicht Blattverbrennungen eintreten. Da die Brühe wohl alle Muttertiere, nicht aber alle Eier vernichtet, ist die nochmalige Anwendung nach dem Auskriechen der jungen Läuse geboten.

Ehrenberg (Breslau).

**Caruso, G.**, Terza comunicazione sulle esperienze per combattere gli Elateridi dei cereali. (Atti d. Accademia dei Georgofili in Firenze. Vol. LXXXIII. 1905. p. 86.)

Die Versuche dauerten von 1901 bis 1904. Gründüngung mit weißem Senf zwingt die Elateriden der Getreide, eine Zuflucht in tiefere Bodenschichten zu suchen, wo sie den Weizen nicht mehr beschädigen können. Hafer, Mohrenhirse und Mais werden im Kreis Pisa von Elateriden kaum angegriffen, wohl aber in der Lombardei und anderen Ländern. Ferner scheinen die Elateriden trockene und lockere Böden zu bevorzugen, wahrscheinlich der besseren Durchlüftung halber. Jedenfalls wäre eine Untersuchung des biologischen Verhaltens dieser Parasiten sehr erwünscht.

Pantanelli (Rom).

**Caruso, G.**, Seconda serie di esperienze su la influenza della ramatura, della concimazione e delle varietà di Olivi nella lotta contro il *Cycloconium oleaginum*. (Atti d. Accademia dei Georgofili in Firenze. Vol. LXXXIII. 1905. p. 29.)

Die erste Versuchsreihe (Vol. LXXXI. 15. Juli 1903) bringt die Resultate aus den Jahren 1902 und 1903, die vorliegende aus den Jahren 1904 und 1905. Es hat sich ergeben, daß die Kupferbespritzung das beste Mittel gegen *Cycloconium oleaginum* darstellt. Gute Düngung kann nur in geringerem Grade helfen. Noch weniger hilft die spezifische Widerstandsfähigkeit einzelner zum Veredeln benutzter Rassen. Jedenfalls bilden gedüngte und bespritzte Oelbäume viel größere Oliven aus als die sich selbst überlassenen. Pantanelli (Rom).

**Eckstein, K.**, Ueber die Anwendung von Fangkloben. I. Zur Vertilgung des *Hylobius abietis*. (Zeitschr. f. Forst- und Jagdw. Jahrg. XXXVII. 1905. p. 207 - 220.)

Um die Meinungsverschiedenheit über die Wirksamkeit der Fangrinden und Fangkloben, die sich namentlich in den Generalverordnungen der Sächsischen Staatsforstverwaltung ausspricht, zu klären, hat E. umfangreiche Versuche mit genauen Auszählungen u. s. w. angestellt, deren Ergebnisse nicht nur der forstlichen Praxis unmittelbar zu gute kommen, sondern auch die noch immer nicht erschöpfende Kenntnis von der Biologie des großen braunen Rüsselkäfers befördern. Die Versuche sollten namentlich zu Beantwortung der Fragen dienen: Wo fängt man am zweckmäßigsten den Käfer und wann muß mit dem Legen der Kloben begonnen werden, wie oft sollen sie erneuert, wie oft abgesucht werden? Nach ausführlicher Schilderung seiner Versuchsanordnung und Mitteilung ihrer Ergebnisse in Form von Tabellen und Diagrammen faßt E. das Erreichte in folgenden Sätzen zusammen: 1) *Hyl. abietis* überwintert sowohl in den Schonungen wie im Altholze; die Käfer werden sich über Winter auch im Stangenholze verstecken; jeder Nachbarbestand schickt daher im Frühjahr Käfer auf die Kulturfläche. 2) Die außerhalb der Kulturfläche liegenden Fangkloben liefern ebensoviel Käfer als die auf der Kultur gelegten, letzteres auch in dem Falle, daß ein Rüsselkäfergraben gezogen war; dieser wird daher von einem sehr großen Teile der Rüsselkäfer überflogen. 3) Das tägliche Absuchen liefert weit mehr Käfer, als das in mehr oder minder großen Pausen durchgeführte Einsammeln. 4) Der Anstrich der Fangkloben mit einem Anlockmittel, wie Terpentinöl, ist überflüssig. — Hieraus werden die unmittelbaren Folgerungen für die Praxis gezogen und nach später mitzuteilenden Erfahrungen über Bekämpfung der wurzelbrütenden Bastkäfer die Möglichkeit völliger lokaler Ausrottung des *Hyl. abietis* in Aussicht gestellt. Jacobi (Tharandt).

**Krasser, Fridolin**, Ueber die Bekämpfung der Obstmade bezw. der *Carpocapsa pomonana* mit Arsenpräparaten, insbesondere Schweinfurtergrün. (Obstgarten. Klosterneuburg 1905. No. 3. 8 p.)

Es liegt kein zwingender Grund vor, zur Bekämpfung der *Carpocapsa* Spritzungen mit Arsenpräparaten zu empfehlen. Denn das „Schweinfurtergrün“ ist von variabler Zusammensetzung, ihr Gehalt an freier arseniger Säure kann die bespritzte Pflanze erheblich schädigen. Und andererseits empfiehlt sich auch das arsensaure Blei nicht, da es

weiß ist und verhängnisvolle Verwechselungen mit Genußmitteln hervorbringen kann. Nur dann empfiehlt Verf. die versuchsweise Anwendung von Arsenpräparaten, wenn die Obstmade in einer Gegend sehr zahlreich ist. Das beste Mittel gegen den Schädling bleibt die Raupenfalle, doch muß sie das ganze Jahr angewendet werden, da die Biologie des Insekts erst in klimatisch verschiedenen Gebieten klargestellt werden muß. Man kennt ja noch nicht einmal genau ihre natürlichen Feinde.  
Matouschek (Reichenberg).

## Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

### Systematik, Morphologie.

- Stursberg**, Ueber *Anguillula intestinalis*. (Sitzungsber. d. Niederrhein. Ges. f. Natur- u. Heilk. Bonn 1905. 1. Hälfte. p. 28—29.)  
**Thiroux**, Recherches morphologiques et expérimentales sur *Trypanosoma duttoni* (Thiroux). (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 9. p. 564—572. 1 Taf.)  
**Vitale, Francesco**, Contributo a lo studio dei Coleotteri di Sicilia. 1. Coccinelli di Naturalista Siciliano. Anno XVII. 1905. N. 9. p. 193—200; N. 10. p. 219—229.)

### Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

- Adeney, W. E.**, Chemical changes attending the aerobic bacterial fermentation of simple organic substances. 1. Urea Asparagine Albumose and Rochelle Salt. (Proc. R. Irish Acad. Vol. XXV. 1905. p. 6—23. 2 Taf.)  
**Buchner, Eduard und Antoni, Wilhelm**, Existiert ein Coenzym für die Zymase? (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XLVI. 1905. Heft 1/2. p. 136—154.)  
**Hayduck, Fritz**, Ueber die Bedeutung des Eiweiß im Hefenleben. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 41. p. 573—576.)  
**Heimerl, A.**, Einiges aus dem Leben der Rostpilze. 1. (Wiener ill. Gartenztg. Jg. XXX. 1905. p. 167—172.)  
**Silberberg, Max**, Triebkraftbestimmung der Hefe. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVIII. 1905. N. 41. p. 388—389.)  
**Smith, R. Greig**, The bacterial origin of Macrozamia gum. (Proc. of the Linnean Soc. of New South Wales. Vol. XXIX. 1904. P. 4. ersch. 1905. p. 863—868.)  
**de Stefani-Perez, T.**, Nota biologica sull' *Apion violaceum* Kirby. (Naturalista Siciliano. Anno XVII. 1905. N. 7/8. p. 177—179.)  
 Ueber Schwefelwasserstoffbildung der Hefe. (Die Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 42. p. 494—495.)  
**Viala, P. et Pacottet, P.**, Nouvelles recherches sur l'anthracnose. Levures, Kystes, formes de reproduction et de conservation. (Rev. de viticulture. Année XII. T. XXIV. 1905. N. 618. p. 433—439. M. Fig.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

#### Luft, Wasser, Boden.

- Calmette, A., Boullanger, E. et Rolants, E.**, Contribution à l'étude de l'épuration des eaux résiduaires des villes et des industries. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 9. p. 529—540.)  
**Dienert, F.**, Des méthodes employées pour surveiller les eaux destinées à l'alimentation et de l'interprétation à donner aux résultats obtenus. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 9. p. 541—563.)  
**Huntmüller, Otto**, Vernichtung der Bakterien im Wasser durch Protozoen. (Arch. f. Hyg. Bd. LIV. 1905. Heft 2. p. 89—100. 1 Taf.)  
**Willson, H. S.**, The isolation of *B. typhosus* from infected water, with notes on a new process. (Journ. of hyg. Vol. V. 1905. N. 4. p. 429—443.)

## Nahrungsmittel.

- Belser, Joseph**, Studien über verdorbene Gemüsekonserven. (Arch. f. Hyg. Bd. LIV. 1905. Heft 2. p. 107—148.)
- Borax und Borsäure als Arznei- und Konservierungsmittel.** Hrg. vom Bunde deutscher Nahrungsmittel-Fabrikanten und -Händler. Heidelberg. Winter 1905. 118 p. 8°. 3 M.
- Hasterlik, Alfred**, Die praktische Lebensmittelkontrolle. Ein Leitfaden in die Nahrungs- und Genußmittelpolizei und für das Lebensmittelgewerbe. Stuttgart (Ulmer) 1905. IV. 171 p. 1 Taf. u. 42 Fig. 8°. 4 M.
- Juckenack, A.**, Die Nahrungsmittelkontrolle in Deutschland, ihre Entstehung und Entwicklung, sowie ihr Einfluß auf den Verkehr mit Lebensmitteln und auf die Volksernährung. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspfl. Bd. XXXVII. 1905. Heft 4. p. 678—688.)
- v. Spindler, O.**, Zum Borsäurenachweis. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. X. 1905. Heft 8. p. 478—482.)

## Fleisch.

- Schlegel, Carl**, Was muß man von der Schlachtvieh- und Fleischbeschau wissen? Auf Grund des Reichsgesetzes vom 3. VI. 1900 betr. die Schlachtvieh- und Fleischbeschau und der dazu ergangenen Ausführungsbestimmungen des Bundesrates bearbeitet. Berlin (Steinitz) 1905. 120 p. 8°. 2 M.

## Milch, Molkerei.

- Baier**, Ueberhandnehmen der Butterfälschungen. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XV. 1905. N. 41. p. 483—484.)
- Branth, A. V.**, Käse aus pasteurisierter Milch. (Milch-Ztg. Jg. XXXIV. 1905. N. 41. p. 503.)
- Majno, Giovanni**, Intorno ad un progetto di municipalizzazione del servizio del latte in Milano. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVII. 1905. N. 9. p. 393—400.)

## Wein, Weinbereitung.

- Delle, Ed.**, Le phosphore dans les vins. (Moniteur vinicole. T. L. 1905. N. 79. p. 314.)
- Lüstner, G.**, Ueber einen die Korke der Weinflaschen zerstörenden Schädling. (Mitt. über Weinbau. Jg. XVII. 1905. N. 9. p. 148—150. 1 Fig.)
- Thomas, G.**, Fermentation des vins blancs. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 82. p. 326.)

## Bier, Brauerei.

- Grohn**, Erfahrungen des letzten Jahres und Ansichten über das kurze Blattkeimgewächs und die „weißen“ Biere. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 41. p. 582—584.)
- Prior, E.**, Biertypen und die Bereitung von Qualitätsbieren. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 42. p. 471—475.)
- Wallerstein, Max**, Die Beziehungen der Proteide zu den Mälzeigenschaften der Gerste. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 40. p. 447—451; N. 41. p. 459—462. [American Brewers Rev. 1905. p. 398.])

## Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

- Kausch**, Neuerungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. 1905. N. 7/10. p. 194—219. 19 Fig.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

## Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Arthur, J. C.**, Leguminous rusts from Mexico. (Bot. Gaz. Chicago. Vol. XXXIX. 1905. p. 385—396.)
- van Breda de Haan, J.**, Eene nieuwe ziekte in de vanielje. (Teysmannia. XVI. 1905. p. 145—153.)
- , Valsche meeldauw bij den Wijnstok in Ned. Indie. Teysmannia. XVI. 1905. p. 286—288.)
- de Candolle**, Observations tératologiques. (Bull. Trav. soc. bot. Genève. T. XI. 1905.)
- Cook, M. T.**, The insect galls of Indiana. (Ann. Rep. Dep. Geol. Nat. Resources Indiana. 1904. p. 801—867.)
- F.**, El gusano de la fruta. (Instrypetas ludens). (Bol. de la Com. de parasitol. agrícola. T. II. 1905. N. 7. p. 345.)
- Emerson, R. A.**, Apple scab and cedar rust. (Bull. Nebraska Agr. Exp. Stat. 1905. p. 1—21.)



- Forbes, Wm.**, The vapourer moth. (*Orgyia antiqua*). (Journ. of the board of agricult. Vol. XII. 1905. N. 7. p. 420—421.)
- Hedgcock, T. T.**, A disease of cauliflower and cabbage caused by *Sclerotinia*. (Rep. Missouri bot. Garden 1905. p. 149—151.)
- Houard, C.**, Sur une lépidoptéroécidie intéressante du *Scabiosa columbaria*. (Marcellia. IV. 1905. p. 31.)
- , Caractères, morphologiques et anatomiques des Diptéroécidies des genévriers. (Rep. gén. bot. T. XVII. 1905. p. 198—222.)
- Johnson, J.**, Swede leaf-spot. (Journ. Dept. Agric. Techn. Instruct. Ireland. V. 1905. p. 438—442.)
- Jumelle, H.**, De l'influence des endophytes sur la tubération des *Solanum*. (Rev. Gén. bot. XVII. 1905. p. 49—59.)
- Kulisch, Paul**, Was lehrt uns das diesjährige Auftreten der *Peronospora*, besonders auf den Trauben, für die zukünftige Bekämpfung der Krankheit? (Mitt. über Weinbau. Jg. XVII. 1905. N. 9. p. 150—152; Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 42. p. 495—497; N. 43. p. 506—507.)
- Lagerheim, G.**, Baltiska zooecidier. (Arkiv för bot. IV. 1905. N. 10. 27 p. M. Taf.)
- Flowright, Ch. B.**, Corticium (*Peniophora*) *Chrysanthemi*. (Trans. British Mycol. soc. 1905. p. 90—91. 1 Taf.)
- Smith, C. O.**, The study of the diseases of some truck crops in Delaware. (Delaware Coll. Agric. Exp. Stat. Bull. 1905. p. 1—16.)
- Smith, E. F.**, The bud rot of the coconut palm in the West Indies. (Bull. Depart. Agric. Jamaica III. 1905. p. 128—130.)
- , Bacteria in relation to plant diseases. Washington 1905. 300 p. 4°. 21 Taf. u. Fig.
- Smith, R. E.**, Pear scab. (Univ. California Bull. Agr. Exp. Stat. 1904. 18 p. 4°.)
- Snyder, H.**, Rusted wheat. (Bull. Minn. Agr. Exp. Stat. 1905. p. 228—231.)
- Spaulding, P.**, A disease of black oaks caused by *Polyporus obtusus* Berk. Ann. Rep. Missouri bot. gard. XVI. 1905. p. 109—116.)
- Trabut, Un ennemi de l'Oxalis**. (Rev. Hort. Algérie. IX. 1905. p. 59—60.)
- Wigman, H. J.**, De teelt van dem Wijnstok. (Teysmannia XVI. 1905. p. 270—278.)
- Wilcox, E. M.**, Disease of the apple cherry, peach, pear and plum, with method of treatment. (Bull. Alabama Agric. Exp. Stat. T. CXXXII. 1905. p. 75—142.)
- Zacharewicz, Ed.**, La „maladie rouge“ de la vigne et son traitement. (Rev. de viticulture. Année XII. T. XXIV. 1905. N. 618. p. 447—448.)

#### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

- Trübentach, Die Vertilgung des Wildhafers (*Avena fatua*).** (Sächs. landw. Ztschr. 1905. N. 31. p. 709—711.)
- Trübentach, B.**, Die Vertilgung des Unkrautes auf den Wiesen. (Land- u. forstw. Ztg. Jg. XX. 1905. N. 37. p. 215—217. [Landw. Presse].)
- Vertilgung der Algen durch Kalkvitriol. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 27. p. 383.)
- Zum Kampfe gegen die Pflanzenkrankheiten. (Der Obstgarten. 1905. N. 9. p. 133—135.)

#### Inhalt.

##### Referate.

- Arthur, J. C.**, Cultures of Uredineae in 1904, p. 650.
- , Terminology of the spore-structures in the Uredinales, p. 650.
- Bassu, E.**, Sul fenomeno dell' anaerobiosi, p. 644.
- Brüning, Herm.**, Rohe oder gekochte Milch? p. 642.
- Brisi, V.**, Sul brusone, p. 653.
- Clausen**, Ein gefährlicher Schädling der Kohlpflanzen und Steckrüben während dieses Sommers, p. 659.
- Csapek, Friedrich**, Biochemie der Pflanzen. Bd. II., p. 647.
- Eckstein**, *Aradus cinnamomeus* Panz., die Kiefernrinnezwanz, p. 658.
- Effront, J.**, Sur le procédé de fermentation à la colophane, p. 642.
- Eppner, K.**, Ueber einige Fälle von Schälbeschädigungen durch das Eichhörnchen (*Sciurus vulgaris*), p. 650.
- Fischer, G.**, Natural pure yeast propagation in brewing, p. 643.
- Fuchs, G.**, Beschreibung der Larve des *Otiorrhynchus sensitivus* Scop. syn. *planatus* Herbst., p. 659.
- Gibson, Miss C. M.**, Notes on infection experiments with various Uredineae, p. 650.
- Gorini, C.**, Su la necessità di ordinare la classificazione dei batterii del latte, p. 641.
- Goury, G. et Guignon, J.**, Les insectes parasites des Berbéridées, p. 657.
- , Les insectes parasites des Renonculacées, p. 657.
- Guilliermond**, Remarques sur la cytologie des Ascomycètes, p. 649.
- Heinricher**, Ein Hexenbesen auf *Prunus Padus* L., p. 651.
- , *Exoascus Cerasi* (Fuckel) Sadebeck als günstiger Repräsentant Hexenbesen bil-

- dender Pilze für pflanzenbiologische Gruppen, p. 652.
- Knoche**, Zur Generationsfrage der Borkenkäfer, p. 658.
- Koch**, Das Eichhörnchen (*Sciurus vulgaris* L.) als Waldschädling, p. 660.
- Korff, G.**, Ueber Wurzelbildungen bei Obstbäumen, p. 652.
- Krüger**, Untersuchungen über den Gürtelschorf der Zuckerrüben, p. 654.
- Kulisch**, Ueber das diesjährige Auftreten der *Peronospora* am Rebstocke, besonders auf den Trauben, p. 655.
- Laubert, R.**, Die Kropfkrankheit (*Plasmodiophora*) des Kohls und ihre Bekämpfung, p. 652.
- Lemée, E.**, Les ennemis des plantes, 3<sup>e</sup> Sér. No. 1: Arbres fruitiers, p. 649.
- , Les ennemis des plantes. Catalogue raisonné des insectes cécidogènes et non cécidogènes, maladies cryptogamiques, phanérogames parasites sur les plantes vivantes; fasciations, cas de tératologie, p. 649.
- Malenković, Basilius**, Ist Holz durch Bakterien vergärbbar? p. 651.
- Marès, R.**, Une invasion de chenilles de Sphinx dans le vignoble du département d'Alger, p. 657.
- Marino, L. e Sericano, G.**, Studio chimico e fisico su la natura chimica degli enzimi e la loro attività, p. 641.
- Masoni, G.**, Nitrificazione delle materie azotate portate nel terreno con il pozzo nero, p. 643.
- Molisch, Hans**, Die Lichtentwicklung in den Pflanzen, p. 648.
- Pierre, Abbé**, L'éclosion des oeufs des *Lestes viridis* Van der Lind, p. 657.
- Ross, H.**, Ueber Schädigungen des Haselstrauches und deren Bekämpfung, p. 656.
- Salmon, E. S.**, On the present aspect of the epidemic of the American Grosseberry-Mildew in Europa, p. 655.
- Schmidt**, Die Milbenspinne an Stachelbeeren, p. 654.
- Seiler, Franz**, Zusammensetzung der durch Bakterien gebildeten Schleime, p. 646.
- Stift, A.**, Bemerkungen über den Gürtelschorf der Rüben, p. 654.
- Strunk**, Bericht über eine Reise nach St. Thomé, p. 657.
- Thaxter, Roland**, Contributions from the cryptogamic laboratory of Harvard University: LVI. Notes on the Myxobacteriaceae, p. 644.
- , Preliminary diagnoses of new species of Laboulbeniaceae. VI. Contributions from the cryptogamic laboratory of Harvard University. LXII., p. 645.
- v. Tubeuf**, Hexenbesen an *Prunus Padus*, p. 652.
- Vageler, P.**, Die Entstehung und Vegetationsverhältnisse der Moore, p. 643.
- Vermeil, P.**, Situation viticole et vinicole de la province d'Oran, p. 655.
- Vetter**, Zum Auftreten der *Peronospora viticola* im heurigen Jahre, p. 655.
- Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.**
- Csaplicki**, Die Homogenisierung der Milch als Nährboden für Bakterien, p. 661.
- Senft, Emanuel**, Mikroskopische Untersuchung des Wassers mit Bezug auf die in Abwässern und Schmutzwässern vorkommenden Mikroorganismen und Verunreinigungen, p. 660.
- Zangenmeister, W.**, Der Einfluß der Bakterien auf die molekulare Konzentration des Nährbodens, p. 660.
- Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.**
- Baumann, Ernst**, Ueber die Konservierung der Milch durch Wasserstoffsuperoxyd, p. 663.
- Cantin, G.**, Sur la destruction de l'oeuf d'hiver du Phylloxera par le Lysol, p. 667.
- Caruso, G.**, Terza comunicazione su le esperienze per combattere gli Elateridi dei cereali, p. 667.
- , Seconda serie di esperienze su la influenza della ramatura, della concimazione e delle varietà di Olivi nella lotta contro il *Cycloconium oleaginum*, p. 668.
- Eckstein, K.**, Ueber die Anwendung von Fangkloben. I. Zur Vertilgung des *Hylobius abietis*, p. 668.
- Ferle**, Beizversuche, ausgeführt an Weizen, p. 666.
- Hirsch, Julius**, Der Einfluß von Formaldehyd auf Vermehrungsenergie und Gärungsenergie, sowie auf die Generationsdauer verschiedener Hefearten, p. 664.
- Hollrung**, Zur Bekämpfung der Eichenkolbenlaus (*Phylloxera coccinea* Heyd.), p. 667.
- Krasser, Fridolin**, Ueber die Bekämpfung der Obstmade bzw. der *Carpocapsa pomonana* mit Arsenpräparaten, insbesondere Schweinfurtergrün, p. 668.
- Moritz**, Was kann und soll der deutsche Winzer zur Bekämpfung der Reblauskrankheit tun? p. 667.
- Passerini, N.**, Sopra la sterilizzazione dei mosti mediante i solfiti in rapporto con l'uso dei fermenti selezionati, p. 665.
- , Su la fermentazione con mosto sterilizzato mediante solfiti e con fermenti adattati al mezzo solforoso, p. 665.
- , Esperienze per combattere la peronospora della vite, p. 667.
- Sénéquier et le Baron**, Les stérilisateurs Otto, applications pratiques de l'ozone au traitement de l'eau et de l'air, p. 662.
- Neue Litteratur**, p. 669.

*Nachdruck verboten.*

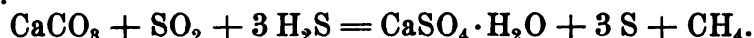
## Ueber Methanbildung in der Natur bei biologischen Prozessen.

[Aus dem Laboratorium von Prof. Dr. S. Winogradsky im Kaiserlichen Institute für experimentelle Medizin in St. Petersburg.]

Von W. Omellanski.

Fälle von Methanausscheidung neben anderen Kohlenwasserstoffverbindungen bei verschiedenen Aeüßerungen vulkanischer Tätigkeit sind schon längst bekannt und zu wiederholten Malen beschrieben worden. So werden z. B. bei den periodisch wiederkehrenden Vulkaneruptionen stets ungeheure Mengen brennbarer Gase, welche Wasserstoff, Methan und andere Kohlenwasserstoffe enthalten, ausgeschieden. In noch größeren Mengen scheiden Methan (zuweilen in fast reinem Zustande) Schlammvulkane oder sogenannte Salsen, welche sich gewöhnlich im Gebiete naphthahaltiger Erdbezirke befinden, aus. Viele heiße Mineralquellen, welche gleichsam die letzte Aeüßerung erlöschender Vulkantätigkeit darstellen, sowie auch einige kalte Quellen, enthalten gleichfalls nicht selten Methan in gelöstem Zustande. Hierher gehören die Quellen von Guntersbad, Harrowgat, Aachen, Nenndorf, Iwanicz und andere<sup>1)</sup>.

Auffallend groß ist die Methanausscheidung aus naphthahaltigen Erdschichten. So strömen z. B. in der Nähe von Baku, in einer Gegend, welche als Atesch-Jach (Feuerbezirk) bezeichnet wird, aus Erdspalten unaufhörlich riesige Strahlen brennbarer Gase, welche eine beträchtliche Menge Methan enthalten und das Objekt des religiösen Kultus der Parsifeueranbeter bilden, hervor. Wir wollen hier die Streitfrage von der Entstehung der natürlichen Kohlenwasserstoffe nicht berühren und die in Betreff derselben herrschenden Meinungen nicht einer genauen Betrachtung unterziehen, sondern nur darauf hinweisen, daß nach einer der diesbezüglichen Theorien (Roche) ihre Entstehung als Resultat der Wechselwirkung von mineralischen Stoffen, Carbonaten, Schwefelwasserstoff und schwefeligsaurem Anhydrid betrachtet wird. Nach dieser Theorie kann man sich z. B. die Bildung von Methan in folgender Weise vorstellen:



Der bei der Reaktion freiwerdende Schwefel bildet auch ein gewöhnliches Produkt vulkanischer Tätigkeit. Nach einer anderen, gleichfalls mineralischen Theorie wird die Entstehung natürlicher Kohlenwasserstoffverbindungen der Wirkung von Wasser auf Kohlenstoffverbindungen von Eisen und Aluminium zugeschrieben (Mendelejew, Arm. Gautier).

Genügen nun aber die erwähnten Quellen von Methanbildung unter Einwirkung vulkanischer Kräfte, um den fast allerorts zu beobachtenden Gehalt dieses Gases in der Luft zu erklären? Sicherlich nicht! In der Natur muß es andere Ursprungsquellen dieses Gases, welche allgemeinere Verbreitung besitzen, nicht von lokalen geologischen Boden-

1) Armand Gautier, Comptes Rendus. T. 131. 1900. p. 647. Cf. auch Hoppe-Seyler, Z. f. physiol. Chem. Bd. X. 1886. p. 207.

beschaffenheiten abhängen, nicht nur bestimmten Gegenden angepaßt sind, sondern überall an der Erdoberfläche verbreitet sind, geben. Alles zwingt zu der Annahme, daß in dieser Beziehung jene komplizierten und in der Mehrzahl der Fälle noch wenig erforschten Zersetzungsprozesse von pflanzlichen und tierischen Ueberresten, welche an der Erdoberfläche beständig stattfinden und als Endresultat zu vollkommener Mineralisation der organischen Stoffe führen, eine hervorragende Rolle spielen müssen. Das Vorhandensein von Methan zwischen sonstigen gasförmigen Produkten, die bei diesen Prozessen ausgeschieden werden, ist schon vor langem konstatiert worden. Im Jahre 1776 hat der berühmte Volta nachgewiesen, daß fast stets aus feuchtem, an organischen Ueberresten reichen Boden ein besonderes Gas, welches er als „entzündbare Luft“ bezeichnet hat, ausgeschieden wird. In einem an seinen Freund, den Pater Campi, gerichteten Briefe sagt er <sup>1)</sup>:

„Was sagen Sie, wenn ich Ihnen gleich zum Anfang melde, daß ich an verschiedenen Orten, wo ich mich während dem Herbst befand, und auch hier in meiner Wohnung entzündbare Luft angetroffen und gesammelt habe? Daß, wo ich mich finde, ich mag mich zur Rechten oder zur Linken wenden, ich nur wenige Schritte dazu zu tun habe, weil mir die Erde und das Wasser ganz zubereitete entzündbare Luft, so viel mir gefällig ist, darbieten.“

Bunsen, später Hoppe-Seyler, bestätigten den Befund Voltas, wobei sie bemerkten, daß die Methanausscheidung aus feuchtem Boden besonders energisch in warmen Sommermonaten vor sich geht. Ueberall, wo Zersetzung von pflanzlichen Ueberresten ohne oder bei beschränktem Luftzutritt stattfindet, auf feuchten Wiesen, in Seen, Sümpfen und Morästen beobachtet man Methanausscheidung. Die Methanausscheidung aus Sümpfen, welche besonders bemerkbar wird, wenn man den Schlamm am Boden derselben aufwühlt, hat sogar dazu Anlaß gegeben, diesen Körper als Sumpfgas zu bezeichnen. An denjenigen Punkten, wo infolge natürlicher Verhältnisse pflanzliche Ueberreste angehäuft werden, wie z. B. in den Flußmündungen, ist auch die Methanausscheidung eine recht beträchtliche. So ist z. B. im Delta des Mississippi, in der Nähe von New-Orleans, eine Zeit lang eine so energische Absonderung brennbarer Gase beobachtet worden, daß man sogar dieselbe zur Beleuchtung der Stadt auszunutzen geplant hatte. Es waren hier kleine, kraterähnliche Gebilde entstanden, welche brennbare Gase, infusorienhaltigen Schlamm und Wasser ausstießen; einige dieser Kegel waren im Laufe mehrerer Jahre tätig. Das brennbare Gas bestand zum größten Teil (bis auf 90 Proz.) aus Methan und Kohlensäure mit geringer Beimengung von Stickstoff. Ihre Entstehung ist dadurch zu erklären, daß im Deltaalluvium des Mississippi sich ganze Lager von durch Hochwasser hier angeschwemmter Baumstämme bilden und dann gewiß der Zersetzung anheimfallen.

Ganz ähnlichen Ursprungs sind vielleicht einige Schlammvulkane, welche sich durch reichliche Kohlenwasserstoffbildung und durch ihre relativ niedrige Temperatur charakterisieren.

Volta kannte auch schon das Vorhandensein von Methan in Steinkohlenbergwerken (Grubengas), wo es von Alters her eine Ursache fürchterlicher Katastrophen, welche zahlreichen Arbeitern das Leben kosten, abgibt, weil es mit der atmosphärischen Luft ein explosives Ge-

<sup>1)</sup> Lettere del Sign. Alessandro Volta, Patrizio Comasco etc. Sull' aria infiammabile nativa delle paludi. Milano 1777. (Uebersetzt von Köstlin, Straßburg 1778. p. 2.)

misch bildet. Nach Analysen von Schloesing<sup>1)</sup> bildet Methan den einzigen brennbaren Bestandteil der Grubengase. In exquisit reinem Zustande scheidet sich Methan aus Spalten in der Steinkohlenschicht selbst oder in dem benachbarten Gestein, sowie aus Bohrlöchern frischer Lagerstätten aus<sup>2)</sup>).

Bis jetzt ist die Frage noch nicht entschieden, ob ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von Methan in Steinkohlenlagern und den oben erwähnten Zersetzungsprozessen pflanzlicher Ueberreste besteht. Die geologischen Befunde bestätigen augenscheinlich diesen Zusammenhang.

Die Steinkohlenperiode ist bekanntlich durch üppige Entwicklung der Vegetation ausgezeichnet. Riesige Farrenwälder, welche auf feuchtem fruchtbaren Boden in einer kohlensäurereichen Atmosphäre aufgewachsen waren, wurden periodisch durch Ueberschwemmungen, welche in dieser Anfangsperiode der Erdentwicklung besonders häufig waren, auf lange Zeit unter Wasser gebracht. Es begannen langsame Zersetzungsprozesse ohne Luftzutritt, die Baumstämme wurden unter einer Schicht angeschwemmten Schlammes und Sandes begraben. Nicht selten wurde die hierbei gebildete Alluvialschicht durch eine neue Hebung der Erdrinde wieder ans Tageslicht befördert, sie bedeckte sich sodann von neuem mit Pflanzen und der Prozeß wiederholte sich. Dieses ist in allgemeinen Zügen das Schema der Prozesse, welche sich hier abgespielt hatten; ein Abbild derselben findet man heutzutage in den aufeinanderfolgenden Schichten von Kohlenflözen und Schlammgebilden einiger Steinkohlenbergwerke.

Der Mechanismus der hierbei stattfindenden chemischen Umwandlungen ist bis jetzt noch nicht aufgeklärt. Man kann annehmen, daß die Cellulose der pflanzlichen Ueberreste, ohne mit Wasser eine Verbindung einzugehen, sich unter Ausscheidung von Kohlenstoff, Kohlensäure und Methan zersetzt hat, und zwar nach folgender Formel:



Ein derartiger oder diesem ähnlicher Zerfall liegt vielleicht den in der Natur so weit verbreiteten Prozessen der Vertorfung organischer Substanzen, d. h. der allmählichen Umwandlung derselben in ein kohlenstoffreiches Gemisch brauner und schwarzer Körper, welches für fossile Kohlenarten charakteristisch ist, zu Grunde.

Jedenfalls läßt sich, gleichviel welches auch immer der Mechanismus dieser Umwandlungen sein mag, die rege Beteiligung von Mikroorganismen an denselben nicht leugnen. Diese Beteiligung wird sowohl durch die früheren Befunde von Van Tieghem, als auch durch die neueren Untersuchungen von Renault, welche augenscheinlich Mikrobentüberreste in aus Steinkohlen angefertigten Schliffen nachweisen konnten, bestätigt. Renault hat sogar für die von ihm entdeckten fossilen Mikroorganismen, ihrer Form entsprechend, besondere Namen vorgeschlagen, nämlich *Bacillus carbo*, *Micrococcus carbo*, *Micrococcus petrolei* u. s. w.

Die eben ausgesprochene Ansicht, welche dahinaus läuft, daß sich Methan überall dort ausscheidet, wo sich organische Ueberreste pflanz-

1) Th. Schloesing, Comptes Rendus. T. 122. 1896. p. 398. Frühere Analysen von Grubengasen findet man in Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. X. 1886. p. 203—205. zusammengefaßt.

2) Kurnakow, N. S., Ueber die Methoden der chem. Untersuchung schlagender Wetter in Kohlenbergwerken. (Bergbau-Journal. 1905. [Russisch].)

lichen und tierischen Ursprungs ansammeln, ist durch die interessanten Befunde von Armand Gautier<sup>1)</sup> aufs Glänzendste bestätigt worden. A. Gautier bestimmten Methangehalt verschiedener Luftproben, welche einerseits von bewohnten und mit Vegetation bedeckten Ortschaften, andererseits von solchen stammten, die von den Einflüssen organischen Lebens mehr oder weniger frei waren. Seine Analysen bezogen sich auf folgende Ortschaften:

a) Stadtluft. Es wurde die Luft im Zentrum von Paris (Boul. St. Germain, Ecole de Médecine) 3,5 m über dem Boden untersucht.

b) Waldluft. Die Luftprobe stammte aus dem Walde von Lainville (Seine-et-Oise), welches 70 km von Paris entfernt ist und 187 m über dem Meeresspiegel liegt. Die Luftprobe wurde in einer Waldlichtung, 20 m von einer Hütte und 1,8 m über der Bodenoberfläche, entnommen.

c) Hochgebirgsluft. Die Untersuchung wurde auf dem Berge Canigou in den Pyrenäen, welcher 2400 m hoch ist, auf einem dem Winde ganz ausgesetzten Felsen vorgenommen, und zwar stand der Apparat 2 m über der Erdoberfläche und 30 m von einer Hütte entfernt.

d) Seeluft. Die Apparate waren auf dem Leuchtturm Roches-Douvres, welcher sich 56 m hoch über einem 40 m vom Ufer der Bretagne entfernten Felsen erhebt, und in einem Moment, wo der Wind gerade vom Ozean her wehte, aufgestellt worden.

In je 100 l Luft, welche von den 4 oben erwähnten Ortschaften stammten, wurden folgende Methanmengen nachgewiesen:

- a) Stadtluft = 22 ccm
- b) Waldluft = 11,3 "
- c) Gebirgsluft = 2,19 "
- d) Seeluft = 0,10 "

Wir sehen also, daß der Methangehalt der Luft allmählich abnimmt, je weiter man sich von bewohnten Zentren und von Ortschaften, die einen üppigen Pflanzenwuchs aufweisen, entfernt, so daß auf hohen Bergen, auf deren steinigem Boden nur eine karge Vegetation fortkommt, der Methangehalt ein minimaler ist und in der Seeluft sogar nur kaum wahrnehmbare Spuren dieses Gases enthalten sind. Wir können deshalb als feststehende Tatsache annehmen, daß Methan in die Atmosphäre nicht nur aus einigen bestimmten Punkten der Erdoberfläche (Vulkangebiete, naphthahaltige Erdgebiete, Steinkohlenlager u. s. w.) gelangt, sondern daß die mit Methanausscheidung einhergehenden Prozesse in der Natur viel weiter verbreitet sind und daß der Boden, das kolossale, die Zersetzung organischer Substanz besorgende Laboratorium, der Ort ist, wo sich diese Prozesse abspielen.

Welches sind nun die im Boden stattfindenden Prozesse, welche zu Methanbildung führen? Laufen sie auf Zersetzung einer bestimmten Substanz unter Einwirkung eines bestimmten Mikroorganismus hinaus oder gibt es eine ganze Reihe der zu Methanzersetzung fähigen Substanzen, wie auch eine Anzahl der diese Zersetzung hervorrufenden Mikroorganismen? Bis vor kurzem konnten wir auch nicht einmal eine annähernde Antwort auf diese Fragen geben, da unsere diesbezüglichen Kenntnisse sehr mangelhaft waren und nur wenige wissenschaftlich untersuchte Tatsachen uns zur Verfügung standen.

<sup>1)</sup> Arm. Gautier, Comptes Rendus. T. 130. p. 1677. T. 131. p. 13, 86, 535. 647. 1900.

Streng genommen, verfügten wir über bestimmte Daten nur in Betreff der Methanzersetzung der Cellulose und zum Teil der Essigsäure. Da in Betreff der sonstigen Ursprungsquellen des Methans in der Natur nichts Bestimmtes bekannt war und da die Cellulose in der Natur überaus weit verbreitet ist, schrieb man in sämtlichen Fällen, wo bei irgend welchen Prozessen, gleichviel ob im Darm des Menschen und der Tiere oder im „Septic Tank“ bei der biologischen Reinigung von Abwässern, im Diffusor von Zuckerfabriken u. s. w., Methanausscheidung zu vermerken war, dieselbe immer der Cellulosezerstörung zu. In den meisten Fällen war dies ja auch richtig, jedoch bei weitem nicht immer.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit ist, nachzuweisen, daß die Zahl selbständiger Prozesse, welche in der Natur mit Methanausscheidung einhergehen, eine weit größere ist, als man annehmen könnte, und daß sie wahrscheinlich nicht geringer ist, als diejenige der mit Wasserstoffausscheidung einhergehenden Gärungsprozesse; weiter soll nachgewiesen werden, daß den unter Umständen Methan gebenden Stoffen nicht nur verschiedene Repräsentanten stickstofffreier Substanzen (Kohlehydrate, Säuren), sondern auch stickstoffhaltige Körper (Eiweiß, Leimstoffe u. s. w.) zuzuzählen seien.

Dem vorgezeichneten Zweck entsprechend, werden wir uns zunächst damit begnügen, eine kurze Beschreibung einiger Fälle von Methangärung von Angehörigen möglichst verschiedener Gruppen organischer Verbindungen zu geben. Die genauere Charakteristik der einzelnen Gärungsprozesse mit Feststellung ihrer Zersetzungsformel, sowie die Frage von den Erregern dieser Prozesse sind durchaus noch nicht erschöpfend bearbeitet und sollen Gegenstand weiterer Untersuchungen und Veröffentlichungen bilden. Sämtliches Zahlenmaterial (die Ergebnisse der Gasanalysen) findet sich am Ende der Abhandlung in Tabellen zusammengestellt.

Wir wollen in unserer Darstellung mit der Cellulose beginnen, deren Methangärung zweifellos die Hauptquelle des Methans in der Natur abgibt. Wir wollen uns jedoch andererseits auch nicht lange bei diesem allerwichtigsten und am besten studierten Prozeß der Methanzersetzung aufhalten, da wir dieses Thema sowohl in einer Reihe spezieller Arbeiten<sup>1)</sup> behandelt, als auch vor kurzem für das „Handbuch der technischen Mykologie“ (s. Bd. III, Kap. 9) bearbeitet haben. Indem wir hier von den Bedingungen der Züchtung, der Zusammensetzung des Gärungsmediums und von den sämtlichen Details gänzlich absehen, führen wir nur als Illustration der dabei stattfindenden Gasausscheidung die Tabelle I an, welche gasanalytische, eine fortlaufende Reihe von Kulturen betreffende Daten wiedergibt. Die Serie haben wir aufs Geratewohl aus einer Reihe ihr ähnlicher herausgegriffen. Wir sehen, daß überall das Gasgemisch nur aus Methan und Kohlensäure besteht, wobei die gegenseitigen Beziehungen beider Bestandteile in ziemlich weiten Grenzen schwanken. Die Verbreitung dieses Prozesses in der Natur ist eine überaus große. Ueberall wo pflanzliche Ueberreste unter Luftabschluß zersetzt werden, im Fluß- und Teichschlamm, in feuchtem Boden, finden sich Bedingungen für die Methanzersetzung der Cellulose, und in der Tat ist für diese Orte Methanausscheidung charakteristisch.

Ein nicht geringeres Interesse bietet die Zersetzung einer anderen

1) Omelianski, Centralbl. für Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 193. Bd. XI. 1904. p. 369. Bd. XII. 1904. p. 33.

Klasse von Kohlehydraten, welche in der Natur ebensoweit verbreitet sind, nämlich der sogenannten Furfuroide, d. h. solcher Substanzen, welche bei der Destillation mit Salzsäure Furfurol liefern. Diese Gruppe enthält vornehmlich Pentosen  $C_5H_{10}O_5$  (Arabinose, Xylose) und ihre Anhydridformen, die Pentosane  $C_5H_8O_4$  (Araban, Xylan), welche die Ligninstoffe in verholzten Zellen stets begleiten<sup>1)</sup>. Die Pentosen sind auch in der Tierwelt sehr stark verbreitet, indem sie einen Bestandteil der Nukleine, Nukleinsäuren und Nukleoproteide bilden (Kossel, Hammarsten, Salkowsky u. a.) und zuweilen in ziemlich bedeutenden Quantitäten bei einigen pathologischen Zuständen des Organismus im Harn auftreten (Pentosurie). In Betreff des Schicksals der Furfuroide, welche mitsamt den pflanzlichen und tierischen Ueberresten in den Boden gelangen, kann man mit Bestimmtheit nur eins behaupten, daß nämlich ihre Zersetzung hier recht langsam vor sich geht, und daß sie, wie auch die Cellulose, zu denjenigen Körpern gehören, welche der Einwirkung von Mikroben sehr schwer unterliegen, weshalb ihre Gegenwart sogar in Produkten weitgehender Zersetzung, wie z. B. Humuskörper, Torf u. s. w., leicht nachzuweisen ist. Die Methanzersetzung von Furfuroiden ist bis jetzt nur für Gummi arabicum, welches ein unbeständiges Gemisch von mindestens zwei Gummisorten mit entgegengesetzter Polarisationsdrehung darstellt, beschrieben worden. Kurz erwähnt wird die Methangärung dieses Kohlehydrates in der Arbeit von L. Popoff<sup>2)</sup>, welche im Jahre 1875 aus dem Laboratorium von Hoppe-Seyler hervorgegangen ist. In Popoffs Versuchen fand Gärung nach Infektion gummihaltiger Nährmedien mit Schlamm statt und hatte Ausscheidung von Kohlensäure, Wasserstoff und Methan (von diesem etwa 6 Proz.) zur Folge. Eine ähnliche Gärung erwähnt auch Hoppe-Seyler<sup>3)</sup> selbst. Die Versuche der erwähnten Autoren, in welchen dank einem reichlichen Zusatz von Schlamm sowohl die Zusammensetzung des Nährmediums eine sehr unbestimmte war, wie auch die Anzahl der nebeneinander verlaufenden Prozesse eine sehr beträchtliche sein konnte, gestatten uns keinen unzweideutigen Schluß auf eine etwa stattfindende selbständige Methangärung von Gummi. Ausgeschlossen war es jedenfalls nicht, daß Methan sich in diesen Fällen als Produkt irgendwelcher sonstiger Gärungen bilden konnte. Um diese Zweifel aufzuklären, haben wir eine Reihe von Versuchen, welche eine möglichst reine Methangärung von Gummi bezweckten, vorgenommen. Als Medium diente zu diesen Versuchen die gewöhnliche Nährsalzlösung mit 1 Proz. von arabischem Gummi (Reinpräparat); zur ersten Infektion nahmen wir ein halbverfaultes Stück Papier aus einer nicht ganz reinen Methangärung der Cellulose. Indem wir die Kultur unter anaëroben Bedingungen züchteten, konnten wir Methangärung von Gummi arabicum hervorrufen, welche wir durch Ueberimpfungen von Kolben zu Kolben bis heute (mehr als 4 Jahre) aufrecht erhalten haben und welche schon über 25 Generationen zählt. Auf Tabelle II finden sich die Ergebnisse der Gasanalyse der zehn ersten Generationen dieser Serie von Ueberimpfungen. Zum Unterschiede von den Befunden L. Popoffs, bestand das Gasgemisch in unseren Versuchen ausschließlich aus Kohlensäure und Methan.

1) Ueber die Verbreitung der Furfuroide im Pflanzenreich und im Boden etc. siehe die Abhandlung von J. Stoklasa, Ueber die Verbreitung und biologische Bedeutung der Furfuroide im Boden. (Sitzungsbericht d. K. Akad. d. Wissensch. in Wien. Mathem. naturw. Klasse. Bd. CVII. Abt. I. 1898. Okt.)

2) L. Popoff, Pflügers Arch. Bd. X. 1875. p. 113.

3) F. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XI. 1887. p. 561.



ohne irgendwelche Beimengung von Wasserstoff. Der Prozentgehalt an Methan war gleichfalls ein viel größerer, als in Popoffs Versuch und erreichte in einigen Portionen fast 70 Proz. Dieselbe Zusammensetzung der Gärungsgase bleibt bis jetzt noch in den Ueberimpfungen bestehen. Wir können also behaupten, daß auch Pentosen, gleichwie die Cellulose, zu Methanzersetzung fähig sind und als Quelle derselben in der atmosphärischen Luft dienen können. — Was den Erreger dieser Gärung anbetrifft, so konnten wir konstatieren, daß er zu derselben Gruppe von Bacillen mit trommelschlägerförmiger Sporenbildung gehört, wie die von uns bei der Wasserstoff- und Methangärung der Cellulose entdeckten, diese jedoch an Dimensionen übertrifft.

Wir gehen nun zur Methangärung der Essigsäure, welche eines der gewöhnlichsten Zersetzungsprodukte, sowohl stickstoffhaltiger (Eiweißstoffe), als auch stickstofffreier Substanzen (Kohlenhydrate, polyatome Alkohole, Säuren mit hohem Atomgewicht u. s. w.) darstellt, außerdem aber auch ein überaus häufig vorkommendes Oxydationsprodukt von Aethylalkohol bildet, über. Es ist bekannt, daß bei unbehindertem Luftzutritt viele Mikroorganismen die Essigsäure zu Kohlensäure und Wasser verbrennen, unter Abschluß von Sauerstoff hingegen vergärt Essigsäure unter Einwirkung von anaëroben Organismen zu Kohlensäure und Methan. Es gibt wohl keinen Grund, die weite Verbreitung dieses letzteren Prozesses neben anderen Arten von Methangärung (z. B. im Boden, im Menschen- und Tierdarme u. s. w.) zu verneinen. Die Methangärung von essigsaurem Calcium ist zum ersten Male von Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> beschrieben worden. Dieselbe stellte sich in einem fast vollkommen mit einer 2-proz. wässerigen Lösung von essigsaurem Calcium angefüllten und ausgiebig mit Schlamm versetzten Kolben ein. Die bei der Gärung ausgeschiedenen Gase bestanden aus Kohlensäure und Methan, wobei der Gehalt an letzterem bis auf 60—70 Proz. stieg. Wasserstoff war nicht einmal in Spuren nachzuweisen.

In unseren, bereits im Jahre 1902 begonnenen Versuchen benutzten wir zu Anfang eine 2-proz. Lösung von essigsaurem Calcium und eine 0,2-proz. Peptonlösung in Wasserleitungswasser, in letzter Zeit aber eine Lösung von Mineralsalzen mit 1 Proz. Zusatz von essigsaurem Kalium in destilliertem Wasser. Zur Infektion der Stammkultur diente alter Kuhmist, welcher den unteren Schichten eines alten Misthaufens entnommen war. Die erste Aussaat haben wir unter anaëroben Bedingungen am 12. Oktober 1902 begonnen, und fahren wir bis heute fort, das Material in fortlaufenden Ueberimpfungen zu züchten, wobei die Zusammensetzung der sich ausscheidenden Gase beständig kontrolliert wird. In sämtlichen Kulturen bestand das Gasgemisch ausschließlich aus Kohlensäure und Methan, wobei letzteres quantitativ bedeutend überwog, was ja auch nach der Zersetzungsformel von essigsauren Salzen zu erwarten war:  $2\text{KC}_2\text{H}_3\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{K}_2\text{CO}_3 + \text{CO}_2 + 2\text{CH}_4$ .

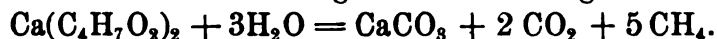
Der Prozentgehalt des Methans war in denjenigen Kulturen besonders hoch, welche in der Lösung von Mineralsalzen mit einem 1-proz. Zusatz von essigsaurem Kalium geführt wurden; er erreichte hier 95 Proz. und darüber. Auf Tabelle III finden sich die Gasanalysen, welche sich auf die ersten 10 Generationen beziehen.

Eine ähnliche Zersetzung hat Mazé in einem Infus von toten Blättern beobachtet. Auf Grund seiner Beobachtungen kommt er zu

1) F. Hoppe-Seyler, Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. XI. 1887. p. 561.

dem Schlusse, daß sich Methan in diesem Falle durch Zersetzung der Produkte der buttersauren Gärung, der Butter und Essigsäure, gebildet hat. Es ist interessant, daß die von Mazé beschriebene „Pseudosarcine“, welche (in Gemeinschaft mit zwei anderen sporenbildenden Formen) die erwähnte Gärung hervorrufen sollte, mir schon aus meinen Kulturen, wo Methangärung der Essigsäure sich abspielte, bekannt war. (Zum ersten Male verzeichnet findet sie sich in meinem Tagebuche am 8. Februar 1903, viel früher also, als mir die Notiz Mazés zu Gesicht kommen konnte).

Außer Essigsäure kann die „Pseudosarcine“ unter Methanbildung auch Buttersäure zersetzen, wie dies auch Mazé annahm. In dieser Richtung haben wir fürs erste nur wenige Versuche mit Normalbuttersäure vorgenommen. In dem einen Falle nahmen wir eine Flüssigkeit, welche 0,5 Proz. buttersaures Calcium und 0,1 Proz. Pepton in Leitungswasser enthielt und infizierten sie am 26. April 1905 mit überaus reinem Material aus der 15. Generation der Kultur mit Methangärung von Essigsäure. Die Gärung begann am 14. Mai und war von ziemlich reger Gasausscheidung begleitet, wobei das Gasgemisch 93,7 Proz. Methan und 6,3 Proz. Kohlensäure enthielt. Der Charakter der Gärung blieb auch in den nachfolgenden Umsaaten ohne Veränderung. Zum zweiten Versuche diente eine 0,5-proz. Lösung von buttersaurem Natrium in destilliertem Wasser unter Zusatz der gewöhnlichen mineralischen Nährsalze. Der Kolben wurde am 26. April aus derselben Kultur, wie auch in ersterem Falle, infiziert. Die Gärung begann am 25. Mai, d. h. fast einen Monat nach der Infektion, und verlief die ganze Zeit über sehr flau. Die ausgeschiedenen Gase bestanden aus 1,8 Proz. CO<sub>2</sub> und 98,2 Proz. Methan! Wir sehen also, daß auch hier, wie bei Essigsäurezersetzung, der Methangehalt der ausgeschiedenen Gase ein sehr hoher ist. Die Formel dieser Zersetzung ist offenbar folgende:



In einer anderen Reihe von Versuchen diente als Ausgangsmaterial Gartenerde (aus Gouv. Wolhynien, Südrußland). Die Ergebnisse der Gasanalysen von zwei Kulturen dieser Reihe sind auf Tab. IV unter No. 4 u. 5 verzeichnet. Ungeachtet der streng elektiven Beschaffenheit des Nährmediums, das als organischen Nährstoff ausschließlich Natriumbutyrat enthielt, verlief die Gärung in beiden Versuchen ziemlich energisch. Bei mikroskopischer Untersuchung zog ein Mikrobium die Aufmerksamkeit auf sich, das der erwähnten Pseudosarcine sehr ähnlich war, nur etwas kleiner und durch eine mehr ausgesprochene Neigung, in isolierte Zellen zu zerfallen, sich auszeichnete.

Es wäre überflüssig, über die Bedeutung der erwähnten Buttersäurezersetzung in der Natur zu reden. Die überaus weite Verbreitung von buttersauren Gärungen sowohl stickstofffreier Substanzen (vor allem Kohlehydrate), als auch stickstoffhaltiger Körper (Eiweiß u. a.) ist allgemein bekannt. Man ersieht daraus die hervorragende Bedeutung der beschriebenen Zersetzung von Buttersäure, welche gleichsam das Endglied des riesigen natürlichen Prozesses der Mineralisation von organischen Stoffen darstellt.

Methanausscheidung ist noch für Milchsäure<sup>1)</sup> beschrieben worden, obgleich Hoppe-Seyler dieselbe als Produkt sekundärer Zersetzung

1) Hoppe-Seyler, Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. XI. 1887. p. 566.

von Essigsäure, welche bei Destruktion der Milchsäure sich bildet, ansieht.

Um mit den stickstofffreien Substanzen abzuschließen, wollen wir noch der vereinzeltten Beobachtungen über Methanausscheidung bei Zersetzung von Milchzucker unter Einwirkung von Reinkulturen des *Bac. saccharobutyricus*<sup>1)</sup> und des *Bac. lactis aërogenes*<sup>2)</sup> Erwähnung tun. Eigene Beobachtungen haben wir auf diesem Gebiete nicht angestellt. Von uns zu wiederholten Malen angestellte Versuche, unter den möglichst verschiedenartigen Bedingungen Methangärung der Saccharosen (Glykose u. a.) hervorzurufen, waren bis jetzt nicht mit Erfolg gekrönt.

Wir sehen also, daß der Methanzersetzung sehr zahlreiche stickstofffreie Substanzen, welche zu verschiedenen Klassen von organischen Verbindungen gehören, unterliegen können. Dieser Typus von Zersetzung der organischen Substanz in der Natur könnte durchaus nicht als allgemein verbreiteter gelten, wenn nicht auch stickstoffhaltige Substanzen, vor allem Eiweißstoffe, welche den Grundbestandteil sowohl pflanzlicher, als auch tierischer Zellen bilden, demselben auch unterliegen könnten. Darüber gab es aber bis vor kurzem nur mehr oder weniger indirekte Hinweise. Hierher gehört z. B. der schon sehr weit zurückliegende Befund von Ruge<sup>3)</sup>, daß bei ausschließlicher Fleischdiät die Dickdarmgase des Menschen ca. 37 Proz. Methan enthalten, eine Quantität, welche wohl kaum anders als durch Zersetzung der Eiweißstoffe (oder ihrer Zerfallsprodukte) erklärt werden kann. Die ersten direkten Angaben über Methangärung von Eiweißstoffen verdanken wir Tappeiner<sup>4)</sup>. Indem er mit einer geringen Menge Schlamm 2-proz. Fleischextrakt infizierte, beobachtete er mehrere Wochen andauernde Methangärung, wobei der Methangehalt der ausgeschiedenen Gase 75 Proz. erreichte. Eine ebensolche Zersetzung bei Infektion mit Schlamm sah Tappeiner, als er anstatt Fleischextrakt Pepsinfibrinpepton, sowie auch das Planzeneiweiß aus Kürbissamen nahm. In beiden Fällen stieg der Methangehalt bis auf 70 Proz. an. Tappeiner hat also auf diese Weise das Vorhandensein von Mikroorganismen, welche nicht nur Cellulose, sondern auch Eiweißstoffe unter Methanausscheidung zersetzen können, im Schlamm nachgewiesen. Dieses veranlaßte Tappeiner sogar, die Vermutung auszusprechen, daß vielleicht die Schlammgase sich zum größten Teile gerade infolge von Zersetzung der Proteinkörper (pflanzliche und tierische Ueberreste) entwickeln, um so mehr als das Verhältnis der Volumina von Kohlensäure und Methan, welche sich bei Eiweißzersetzung ausscheiden (1:3), sich dem in den Schlammgasen zu beobachtenden viel mehr näherte, als das Verhältnis ebenderselben Gase bei der Cellulosegärung. Obgleich die Versuche Tappeiners in methodologischer Hinsicht auch nicht tadellos sind, so darf man ihnen dennoch ein hervorragendes wissenschaftliches Interesse nicht absprechen, da durch sie zum ersten Male die Eiweißzersetzung mit Methanausscheidung unwiderruflich nachgewiesen worden ist. Die Arbeit Tappeiners, welche in einer speziell chemischen Zeitschrift veröffentlicht wurde, ist jedoch nicht nach Gebühr gewürdigt worden. Die Cellu-

1) V. v. Klecki, Centralblatt f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896. p. 169.

2) Ad. Baginski, Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. XII. 1888. p. 434.

3) E. Ruge, Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien. Bd. XLIV. 1861. p. 739.

4) H. Tappeiner, Bericht d. D. chem. Ges. Bd. XVI. 1883. p. 1740.

lose wurde nach wie vor fast als einzige Quelle der Methanentwicklung in der Natur angesehen und auf sie berief man sich jedesmal, wenn es galt, die Methanausscheidung bei irgend welcher Zersetzung von organischer Substanz zu erklären. Mit der Zeit sammelten sich jedoch einzelne Befunde an, welche die Annahme Tappeiners über das Vorhandensein von Fermenten, welche die Methanzerersetzung von Proteinkörpern auslösen können, bestätigten. Es wurden dann vereinzelte weitere Angaben darüber veröffentlicht, daß verschiedene Mikroben bei Züchtung auf eiweißhaltigen Medien Methanausscheidung bedingen. Die Methanausscheidung war wohl nicht selten eine spärliche, zuweilen wurden nur Spuren dieses Gases abgesondert und diese waren mit Wasserstoff untermischt, jedoch verringerte dieses die Bedeutung der Tatsache selbst durchaus nicht. Zu den Mikroben, von denen berichtet worden war, daß sie fähig sind, bei Züchtung auf eiweißhaltigen Medien Methan auszuscheiden, gehören der *Bac. enteritidis sporogenes*<sup>1)</sup>, der *Bac. oedematis maligni*<sup>2)</sup> und der *Rauschbrandbacillus*<sup>3)</sup>.

Unsere diesbezüglichen Untersuchungen begannen wir mit der Nachprüfung der Versuche Tappeiners. Wir konnten jedoch Methangärung der Eiweißstoffe bei Schlamminfektion nicht hervorrufen. Am häufigsten verlief die Fäulnis fast ganz ohne Gasausscheidung, wurden jedoch geringe brennbare Gasmengen abgesondert, so bestanden sie aus Wasserstoff und nicht aus Methan. Wir entschlossen uns deshalb, zur anfänglichen Infektion ein anderes, geeigneteres Material, in welchem bereits energische Zersetzung der Proteinkörper stattfindet, und zwar unter Bedingungen, welche die Lebenstätigkeit von allgemein verbreiteten Fäulnismikroben einschränken, zu verwenden. Nach einigen mißglückten Versuchen wählten wir hierzu verfaulte Wolle. Bekanntlich sammeln sich an den Orten, wo Reinigung von Wolle stattfindet, gewöhnlich Unmengen von Abfällen, welche nicht selten riesige Haufen bilden, an. Nimmt man Wolleproben aus verschiedenen Schichten dieser Haufen, so kann man leicht beobachten, daß oben, wo sich die frischeren Schichten befinden, die Wolle fast gar nicht unter Zersetzungsprozessen gelitten und ihr natürliches Aussehen beibehalten hat. Je tiefer man hingegen in den Haufen kommt, desto deutlichere Merkmale allmählicher Zersetzung gewahrt man, und ganz unten, wo die Abfälle von den höhergelegenen Schichten komprimiert werden, hat die Wolle ihre ursprüngliche Struktur eingebüßt und sich in ein leichtes erdigbraunes Pulver umgewandelt. Infizierten wir mit diesem Material einen für anaerobe Kulturen bestimmten Kolben, welcher eine Mineralsalzlösung (in der Ammoniak und salpetersaure Salze ausgeschlossen sind) und eine stickstoffhaltige Substanz (wie hartgesottenes Eiereiweiß, Gelatine, Tischlerleim, Wolle) enthält, so beobachteten wir in sämtlichen Fällen reine Methangärung, welche sodann in einer Reihe fortlaufender Ueberimpfungen fort dauerte. In vereinzelten Kulturen verlief die Gärung ziemlich energisch, im allgemeinen jedoch entwickelte sie sich unter den erwähnten Verhältnissen ziemlich langsam und zog sich auf Wochen, sogar Monate in die Länge. In der mit Eiweiß beschickten Serie äußerte sich das Resultat der Gärung in vollkommener Lösung des hartgesottenen Eiereiweißes, und zwar fand dieses selbst dann statt, wenn große Eiweißmengen (ein halbes bis ein

1) Russel, cit. nach Migula, System der Bakterien. Bd. II.

2) R. Kerry, Monatsh. f. Chemie. Bd. X. 1889. p. 861.

3) L. Zojá, Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. XXIII. 1897. p. 236.

ganzes Eiweiß auf 300—350 ccm Flüssigkeit) zum Versuche verwandt wurden. Wolle wurde viel langsamer zersetzt und konnte bei ihr keine so vollkommene Auflösung beobachtet werden. Die gegen Ende der Gärung im Kolben zurückbleibende Wolle (wir nahmen in Streifen zerschnittenen Filz) hatte gewöhnlich in bedeutendem Grade ihre anfängliche Festigkeit eingebüßt und bestand aus halbverfaulten zusammengeklebten Fasern. In den mit Gelatine und namentlich mit Tischlerleim (wir nahmen die besten der käuflichen Sorten) beschickten Kolben nahm die Gärung einen viel energischeren Verlauf, so daß nicht daran gezweifelt werden konnte, daß auch in diesem Falle die Eiweißsubstanz eine tiefgreifende Zersetzung einging. Sämtliche Kulturen gaben einen entsetzlichen Fäkalengeruch von sich. Indem wir hier von einer erschöpfenden Darstellung unserer diesbezüglichen Beobachtung absehen, beschränken wir uns auf die Wiedergabe der Gasanalysen, welche in sämtlichen erwähnten Fällen das Vorhandensein von Methanbildung beweisen (Tab. V, VI, VII u. VIII). Wie man aus diesen Tabellen ersieht, bestand das Gasgemisch überall aus Methan und Kohlensäure<sup>1)</sup>. Nur in vereinzelt Fällen, z. B. in einigen Kulturen der Serie mit Eiereiweiß, war den sich ausscheidenden Gasen Wasserstoff, augenscheinlich infolge irgend welcher dazwischen laufender Gärungen, beigemischt.

Außer den erwähnten Eiweiß- und Leimstoffen verwandten wir zu unseren Versuchen auch Pepton, welches eine Substanz mit höherem Nährkoeffizienten darstellt und deshalb zu Elektivkulturen weniger brauchbar ist. Fürs erste haben wir nur noch drei Versuche mit einer Flüssigkeit, welche 1 Proz. Witte-Pepton in einer Mineralsalzlösung enthält, angestellt. Die Stammkultur war aus der 8. Generation der Serie mit Tischlerleimgärung infiziert worden. Es war zu erwarten, daß es uns in diesem Falle dank der bedeutenderen Nährkraft und also auch geringeren Elektionsfähigkeit des Mediums keine reine Methangärung hervorzurufen gelingen würde. In der Tat, konnten wir in unseren Kulturen zweifellos fremde Gärungen beobachten, wofür sprachen 1) die bedeutende Beimengung von Wasserstoff in den Gärungsgasen (besonders in der 1. Kultur); 2) die Tatsache, daß in allen 3 Kulturen zwei deutlich getrennte Gärungsperioden in die Augen fielen: die erste setzte schon den nächsten Tag nach der Impfung ein und stand wieder nach 1 bis 2 Tagen nach der Impfung stille, die zweite (die Methangärung) wurde erst nach einer Woche bemerkbar und dauerte dann längere Zeit an. Wider Erwarten wurden diese interkurrenten Gärungen bei den folgenden Ueberimpfungen dieser Serie schwächer, so daß schon in der 3. Generation die Gärungsgase fast ausschließlich aus  $\text{CH}_4$  und  $\text{CO}_2$  sich zusammensetzten (Tab. IX).

Wir sind am Ende unserer Uebersicht angelangt. Uns liegt die Voraussetzung fern, daß wir in vorliegender kurzer Darstellung sämtliches hierher gehöriges Material, alle Fälle von Methanzersetzung in der Natur, welche durch die Lebenstätigkeit von Mikroben bedingt werden, gesammelt und systematisiert hätten. Man kann wohl kaum daran zweifeln, daß sich die Zahl der hierher gehörigen Prozesse um ein Vielfaches vergrößern muß, sobald dieses durch wissenschaftliche Untersuchungen noch so wenig bearbeitete Gebiet die ihm gebührende Beachtung finden und Gegenstand eines regeren wissenschaftlichen Studiums

1) In dieser, wie auch in den vorhergehenden Tabellen sind in die Rubrik  $\text{CO}_2$  sämtliche durch Aetzkali absorbierbaren Gase eingereiht. Im gegebenen Falle enthielt das Gasgemisch außer  $\text{CO}_2$  und  $\text{CH}_4$  zweifellos auch bedeutende Schwefelwasserstoffmengen.

werden wird. Aber auch schon jetzt kann man mit Gewißheit behaupten, daß die Anzahl der zu Methanzerersetzung fähigen Verbindungen eine sehr beträchtliche ist und daß hier zu den verschiedensten Klassen von organischen Verbindungen gehörige Körper zu finden sind. Zweifellos spielen in diesem natürlichen Prozeß der Methanbildung in der Natur Substanzen von pflanzlicher Herkunft und unter diesen die zur Gruppe der Cellulose gehörigen die Hauptrolle, zugleich kann man jedoch auch die vielleicht übrigens in diffuser Form auftretenden Prozesse der Methanzerersetzung von stickstoffhaltigen Substanzen, hauptsächlich tierischen Ueberresten, nicht negieren. Die Methanzerersetzung von Milchsäure und namentlich von Essig- und Buttersäure bildet sozusagen ein Zwischenglied, da diese organischen Säuren als Zersetzungsprodukt sowohl der pflanzlichen, als auch der tierischen Stoffe auftreten können.

Alle oben erwähnten Tatsachen erklären uns die Beobachtungen Arm. Gautiers über den Methangehalt verschiedener Luftproben. Es erklärt sich auch, weshalb ein reichlicher Methangehalt der Luft von dem Gehalt an organischen Stoffen in der dazugehörigen Bodenschicht abhängt, wobei es gleichgiltig ist, ob der Boden Substanzen von vornehmlich pflanzlicher oder tierischer Herkunft oder die einen und die anderen in gleichem Verhältnis enthält. Die Zahl der zu Methanzerersetzung fähigen Substanzen ist eine so bedeutende und so mannigfache, daß augenscheinlich die Methanzerersetzung in jedem beliebigen Boden, welcher organische Stoffe enthält, auftreten kann.

Aus dem Gesagten erhellt auch, daß man aus der Tatsache der Methanausscheidung bei verschiedenen Prozessen noch keine Schlußfolgerungen über die Natur der zersetzten Substanzen machen kann, wie dieses bis jetzt nicht selten geschehen ist. Es wäre ebenso unbedacht, hierbei vom prozentischen Methangehalt im Gasgemisch auszugehen (bei Zersetzung von essigsäuren Salzen z. B. ist derselbe fast immer ein sehr hoher), da die das Methan begleitende Kohlensäure 1) zur Bildung von doppelkohlensaurem Calcium dienen und 2) mehr oder weniger sich im Wasser auflösen kann und da infolgedessen auch der Methangehalt der Gärungsgase ganz unabhängig von der Zersetzungsformel der verschiedenen Substanzen schwanken muß.

Andererseits kann auch das Methan selbst in Gegenwart anderer Stoffe zersetzt werden. So kann z. B. nach Angaben von Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> die durch Gips bedingte Methanzerersetzung nach folgender Gleichung verlaufen:  $\text{CH}_4 + \text{CaSO}_4 = \text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{S} + \text{H}_2\text{O}$ .

Eine ähnliche Methanzerersetzung findet unter Einwirkung von Eisenoxyd, höheren Manganoxydationsprodukten u. s. w. statt.

Tabelle I.  
Die Gärung der Cellulose.

No. der Kolben	Woher die Impfung stammte	Datum der Impfung	Beginn der Gärung	Gasanalyse			Anmerkungen
				Datum der Ausführung	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>	
1	Geimpft mit frischem Pferdemist	30. Okt. 1899	4. Dez.	Nicht ausgeführt			Nährflüssigkeit: Mist-dekokt

1) Hoppe-Seyler, Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. X. 1886. p. 438.

No. der Kolben	Woher die Impfung stammte	Datum der Impfung	Beginn der Gärung	Gasanalyse			Anmerkungen
				Datum der Ausführung	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>	
2	Von No. 1	29. Dez. 1899	6. Jan. 1900	10. Jan.	30,4	70,2	Nährflüssigkeit: Mist-dekokt
3	" " 2	24. Jan. 1900	2. Febr.	7. Febr.	40,8	59,2	do.
4	" " 3	15. Febr. 1900	25. Febr.	17. März	57,3	42,4	do.
5	" " 4	17. April 1900	26. April	4. Mai	36,5	63,6	do.
6	" " 5	6. Mai 1900	17. Mai	19. Mai	60,2	39,7	Nährflüssigkeit: Mineralsalzlösung
7	" " 6	6. Sept. 1900	15. Sept.	22. Sept.	28,3	71,7	Nährflüssigkeit: Mist-dekokt

Tabelle II.  
Die Gärung des Gummi arabicum.

1	Geimpft mit einem Stück von verfault. Papier	2. Dez. 1901	24. Dez.	18. Jan. 1902	66,5	33,5	
2	Von No. 1	19. Jan. 1902	?	31. Jan.	70,3	29,9	
3	" " 2	1. Febr. 1902	21. Febr.	4. März	75,8	24,1	
4	" " 3	5. März 1902	1. April	5. April	79,0	21,3	Erhitzung der Aussaat (15 Min. auf 75° C)
5	" " 4	9. April 1902	4. Mai	9. Mai	73,4	26,4	
6	" " 5	4. Sept. 1902	14. Sept.	18. Sept.	32,6	67,3	
7	" " 6	18. Sept. 1902	28. Sept.	9. Okt.	70,0	30,2	Nährflüssigkeit mit 0,1 Proz. Pepton
8	" " 7	10. Okt. 1902	17. Okt.	1. Nov.	61,4	38,9	
9	" " 8	5. Nov. 1902	7. Dez.	28. Jan. 1903	67,5	32,5	
10	" " 9	17. Jan. 1903	14. Febr.	20. Febr.	89,3	10,4	Erhitzung der Aussaat (15 Min. auf 75° C)

Tabelle III.  
Die Gärung der Essigsäure.

1	Geimpft mit alt. Kuhmist	12. Okt. 1902	1. Nov.	4. Nov.	13,6	84,0	Nährflüssigkeit m. 0,2 Proz. Pepton
				6. Nov.	15,8	84,2	
				16. Nov.	24,4	75,9	
				4. Dez.	30,6	69,4	
				25. Jan.	18,8	81,2	
2	Von No. 1	8. Febr. 1903	19. Febr.	10. März	12,4	87,6	Nährflüssigkeit m. 0,2 Proz. Pepton
3	" " 2	11. April 1903	27. April	1. Mai	16,5	84,0	do.
4	" " 3	22. Sept. 1903	15. Okt.	24. Okt.	16,7	83,4	do.
5	" " 4	6. Nov. 1903	1. Dez.	7. Dez.	13,0	87,1	do.
6	" " 5	18. Dez. 1903	6. Jan. 1904	10. Jan.	5,9	94,1	Nährflüssigkeit: Mineralsalzlös.
7	" " 6	13. Jan. 1904	1. März	5. März	5,4	94,5	do.
8	" " 7	6. März 1904	15. April	5. Mai	7,2	92,8	do.
9	" " 8	3. Mai 1904	18. Mai	Sept.	23,9	76,3	Nährflüssigkeit m. 0,1 Proz. Pepton
10	" " 9	9. Sept. 1904	23. Sept.	1. Okt.	4,1	95,9	Nährflüssigkeit: Mineralsalzlös.

Tabelle IV.  
Die Gärung der Buttersäure.

No. der Kolben	Woher die Impfung stammte	Datum der Impfung	Beginn der Gärung	Gasanalyse				Anmerkungen
				Datum der Aus- führung	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>	H <sub>2</sub>	
1	Geimpft v. 15 Generation. d. Essigsäure Geimpft mit Gartenerde	26. April 1905	14. Mai	19. Mai	6,3	93,7		Nährflüssigkeit: Die Lösung von 0,5 Proz. Ca but. u. 0,1 Proz. Pept. in Leitungswass.
2	Geimpft aus ders. Kultur, w. auch No. 1	26. April 1905	25. Mai	31. Mai	1,8	98,2		Nährflüssigkeit: 0,5 Proz. Na but. in Minerallösung
3	Von No. 1	9. Sept. 1905	18. Okt.	27. Okt.	8,9	91,1		Nährflüssigkeit: wie in No. 1
4		9. Sept. 1905	6. Okt.	12. Okt.	3,4	96,6		Nährflüssigkeit: wie in No. 2
5	Von No. 4	14. Okt. 1905	25. Okt.	28. Okt.	1,9	98,1		Nährflüssigkeit: wie in No. 2

Tabelle V.  
Die Gärung des Eialbumin.

1	Geimpft von No. 1 (T. VI)	24. April 1903	29. April	3. Mai	38,7	61,5	—
2	Von No. 1	3. Mai 1903	4. Mai	12. Mai	37,8	62,0	—
3	" " 2	12. Mai 1903	15. Mai	18. Mai	64,1	32,3	3,1
4	" " 3	29. Mai 1903	4. Juni	Nicht ausgeführt			
5	" " 4	20. Sept. 1903	25. Sept.	8. Okt.	75,8	17,5	6,5
6	" " 5	8. Okt. 1903	14. Okt.	3. Nov.	63,0	37,2	—
7	" " 6	3. Nov. 1903	16. Nov.	26. Nov.	69,4	30,7	—
8	" " 7	20. Jan. 1904	31. Jan.	17. Febr.	82,0	17,8	—
9	" " 8	5. Mai 1904	21. Mai	Nicht ausgeführt			
10	" " 9	7. Sept. 1904	?	Nicht ausgeführt			
11	" " 10	3. Jan. 1905	?	4. Febr.	83,2	16,6	—

Tabelle VI.  
Die Gärung des Tischlerleimes.

1	Geimpft mit halbverfault. Wolle	? April 1903	? April	22. April	39,9	59,7	
2	Von No. 1	23. April 1903	27. April	28. April	48,9	51,0	
3	" " 2	9. Mai 1903	14. Mai	Nicht ausgeführt			
4	" " 3	20. Sept. 1903	25. Sept.	1. Okt.	72,0	28,0	
5	" " 4	4. Okt. 1903	10. Okt.	14. Okt.	75,2	25,0	
6	" " 5	7. Mai 1904	18. Mai	Nicht ausgeführt			
7	" " 6	7. Sept. 1904	19. Sept.	1. Okt.	78,7	21,1	
8	" " 7	8. Jan. 1905	19. Jan.	1. Febr.	85,4	14,6	
9	" " 8	5. Mai 1905	12. Mai	14. Mai	78,5	21,3	
10	" " 9	16. Sept. 1905	24. Sept.	28. Sept.	88,2	11,8	



Tabelle VII.  
Die Gärung der Gelatine.

No. der Kolben	Woher die Impfung stammte	Datum der Impfung	Beginn der Gärung	Gasanalyse			
				Datum der Aus- führung	CO,	CH <sub>4</sub>	H <sub>2</sub>
1	Geimpft von No. 1 (T. VI)	23. April 1903	28. April	5. Mai	62,6	37,1	
2	Von No. 1	20. Sept. 1903	24. Sept.	1. Okt.	57,8	42,1	
3	" " 2	4. Okt. 1903	17. Okt.	6. Dez.	82,3	17,9	
4	" " 3	9. Dez. 1903	20. Dez.	27. Dez.	72,9	26,9	
5	" " 4	5. Mai 1904	?	Nicht ausgeführt			
6	" " 5	7. Sept. 1904	21. Sept.	15. Okt.	82,9	17,1	
7	" " 6	8. Jan. 1905	?	2. Febr.	70,6	29,3	
8	" " 7	5. Mai 1905	21. Mai	25. Mai	49,6	50,4	
9	" " 8	16. Sept. 1905	26. Sept.	10. Okt.	71,3	28,7	

Tabelle VIII.  
Die Gärung der Wolle.

1	Geimpft mit ein. halbver- fault. Wolle	20. Sept. 1902	30. Okt.	4. Dez.	30,2	65,2	4,6
2	Von No. 1	3. März 1903	20. März	25. März	35,7	64,0	—
3	" " 2	11. April 1903	19. April	25. April	54,5	45,3	—
4	" " 3	27. April 1903	6. Mai	15. Mai	32,8	67,0	—
5	" " 4	20. Sept. 1903	5. Okt.	25. Nov.	45,8	54,5	—
6	" " 5	1. Dez. 1903	24. Jan.	Nicht ausgeführt			
7	" " 6	7. Mai 1904	21. Mai	? Sept.	52,4	47,6	—
8	" " 7	16. Sept. 1904	27. Sept.	5. Okt.	41,5	58,3	—
9	" " 8	8. Jan. 1905	17. Jan.	25. Jan.	41,7	58,3	—
10	" " 9	5. Mai 1905	14. Mai	19. Mai	36,7	63,3	—

Tabelle IX.  
Die Gärung des Peptons.

1	Geimpft von No. 8 (T. VI)	22. Mai 1905	24. u. 30. Mai	1. Juni	60,3	28,1	11,6
2	Von No. 1	24. Mai 1905	25. u. 31. Mai	2. Juni	60,0	34,2	5,8
3	" " 2	16. Sept. 1905	17. u. 24. Sept.	28. Sept.	74,8	25,0	0,2 ?

## Zur Oxalsäurebildung durch *Aspergillus niger*.

Kritische Bemerkungen zu einer Arbeit von G. Charpentier.

Von C. Wehmer.

In Heft 6 und 9 der *Comptes rendus* 1905 erschien kürzlich eine Mitteilung von G. Charpentier<sup>1)</sup> über Oxalsäurebildung durch *Aspergillus niger*, in der Verfasser zu Folgerungen gelangt, die allem bislang über diesen Prozeß Bekannten zuwiderlaufen. Erklärlich ist das eigentlich nur, wenn man annimmt, dass derselbe mit der bisherigen Literatur der Frage und ihrem augenblicklichen Stande so gut wie unbekannt ist. Da die handgreiflich unrichtigen Schlüsse der Arbeit ohne Kommentar auch in die deutsche Literatur übergehen<sup>2)</sup>, erscheint es im Interesse der Sache selbst angebracht, hier einmal ausdrücklich auf deren wirklichen Wert hinzuweisen.

Absehen wollen wir davon, daß schon die einleitenden Bemerkungen Charpentiers unrichtig sind; Duclaux<sup>3)</sup> hat nicht gerade „bewiesen“, sondern nur „angegeben“, daß *A. niger* Oxalsäure erzeugt, ebensowenig sind spätere Untersucher<sup>4)</sup> zu „bald zustimmenden“, „bald entgegengesetzten“ Ergebnissen, und durchaus nicht zu einander „gänzlich widersprechenden Resultaten“ gekommen, sie bestätigen vielmehr ganz — oder richtiger, sie beweisen erst — die Angabe von Duclaux, und suchen dann, was hier die Hauptsache ist, die Abhängigkeit dieser Säureentstehung von den Umständen zu erforschen. Hätte Charpentier von dem Inhalt dieser von ihm selbst sogar zitierten Arbeiten nur halbwegs Kenntnis gehabt, so dürfte er sich die Mühe einer neuen Untersuchung wohl erspart haben, vor allem hätte er aber auf seine wenigen Versuche hin nicht derartige, allem Bisherigen direkt widersprechende irrige Folgerungen gezogen.

Die Behauptungen Charpentiers gipfeln nun darin, daß er als anstoßgebend für die Säureentstehung eine Erschöpfung des Substrats an Nährstoffen betrachtet; gefolgert wird das aus der Beobachtung, daß Oxalsäure in den Kulturflüssigkeiten erst nach Konsum des Zuckers aufgefunden werden konnte und nachdem die Pilzdecken ihr Maximalgewicht erreicht hatten. Die „Reservestoffe“ des Pilzes und nicht der Zucker etc. der Nährlösung sollen also zur Säureentstehung die Veranlassung geben. Diese Folgerung aus den nichts weniger als eindeutigen Beobachtungen übersieht so mancherlei Nebenpunkte, daß sie nur als durchaus willkürlich bezeichnet werden kann; wenn man allerdings auch heute noch in derartigen physiologischen Versuchen mit einer Flüssigkeit von der Zusammensetzung der Raulinschen Nährlösung arbeitet, so nimmt sie kein Wunder; allein auf Rechnung dieser sind auch die — im übrigen ja richtigen, aber sachlich bedeutungslosen — experimentellen Befunde zu setzen. Das braucht hier kaum weiter ausgeführt zu werden.

1) „*Sterigmatocystis nigra et acide oxalique*“. Heft 6. p. 367; Heft 9. p. 429. tom. 141, 2. sem.

2) s. z. B. *Chemisches Centralbl.* Jahrg. LXXVI. II. 1905. p. 972.

3) *Ann. de l'Inst. Pasteur.* T. III. 1889. p. 97 ff.

4) Wehmer, C., *Botan. Zeitg.* 1891. No. 15 u. ff.; *Ber. Botan. Ges.* Bd. IX. 1891. Heft 6 u. 7; *Jahresber. d. Naturh. Ges.* Hannover. 1893. — Emmerling, *Centralbl. f. Bakt. Abt. II.* Bd. X. 1903. p. 273. — Heinze, *Annal. mycolog.* Bd. I. 1903. p. 344.

Mit allen durch frühere Versuche festgestellten Tatsachen — insbesondere auch mit dem regulierenden Einfluß von Basen auf die Säurebildung — ist Charpentier unbekannt, wie das auch seine sonstigen Folgerungen beweisen. Es ist ja längst festgestellt, daß die Oxalsäurebildung durch diesen Pilz lediglich von den besonderen Umständen abhängt, es also in der Hand des Experimentators liegt, die Säureentstehung hervorzurufen oder zu verhindern; verfehlt ist deshalb von vornherein, aus ihrem Auftreten oder Fehlen irgendwelche weitergehende Schlüsse zu ziehen. Die Natur der Kohlenstoffquelle, der Stickstoffverbindung, Reaktion der Nährlösung, Temperatur, An- oder Abwesenheit sonstiger Stoffe bestimmen das Säureauftreten, das habe ich bereits vor mehr als 10 Jahren an der Hand einiger hundert Versuche nachgewiesen<sup>1)</sup>, auch besonders betont, daß freie Oxalsäure nur bei Kohlenhydratnahrung, dagegen oxalsäure Salze bei Darbietung von Pepton, Salzen anderer organischer Säuren u. a., und gar keine Oxalsäure bei Ernährung durch freie Weinsäure, Äpfelsäure etc. entsteht, daß man im übrigen die Ansammlung freier Oxalsäure durch Temperaturerhöhung auch in Zuckerlösungen ganz verhindern, sowie andererseits durch Kreidezugabe wieder hervorrufen kann. In einem gegebenen Falle ist es also rein Zufallsache, d. h. von allerlei Nebenumständen abhängig, ob der Pilz die Säure oder ihre Salze erzeugt, und da er beide auch wieder zerstören kann, so folgt aus dem schließlichen Befunde (Fehlen oder Vorhandensein) für irgendwelche andere Prozesse so gut wie gar nichts. Potentiell ist sie von vornherein bei *Aspergillus* jederzeit da, also nicht erst nach völligem Konsum des Zuckers etc. Selbst wenn Charpentier zur näheren Instruktion die Originalarbeiten nicht zugänglich waren, so hätte er sich über den augenblicklichen wirklichen Stand der Frage aus physiologischen Werken<sup>2)</sup> hinreichend unterrichten können; sie sind ihm anscheinend unbekannt, seine Literaturkenntnis geht über einige — Dezennien zurückliegende — französische Arbeiten nicht hinaus.

Was derselbe überhaupt an Tatsachen aufführt, ist entweder nicht neu — so seine drei Folgerungen auf p. 368 — oder es ist falsch gedeutet, wie das der Schlußsatz der Arbeit zeigt<sup>3)</sup>: „En résumé le *Sterigmatocystis nigra* cultivé sur liquide Raulin, ne secrète jamais d'acide oxalique avant de sporuler, mais la sporulation n'agit qu'indirectement sur cette sécrétion; c'est l'épuisement du milieu qui la provoque. La plante ne produit pas d'acide avant de faire ses conidies, parce qu'elle ne saurait épuiser le milieu sans assurer sa reproduction“. Das Verfehlt eines solchen Standpunktes, der überdies nur wenige eigene Versuche kennt, läßt sich gut durch einige Versuche der früheren Literatur illustrieren.

*A. niger* erzeugte in einer Versuchsreihe<sup>4)</sup> mit je 1,5 g Zucker an Kalkoxalat und Trockengewicht (Ernte) folgendes:

1) l. c. Note 4.

2) Pfeffer, Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. Bd. I. 1897. p. 487 f. — Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 1904. p. 238. — Czapek, Biochemie der Pflanzen. Bd. II. 1905. p. 417 ff.

3) l. c. p. 431.

4) Wehmer, C., Bot. Zeitg. 1891. Tabelle 1 A u. B.

1) ohne Kreidezusatz:			2) mit Kreidezusatz:		
Versuchsdauer	Pilzgewicht	Kalkoxalat	Versuchsdauer	Pilzgewicht	Kalkoxalat
in 4 Tagen	0,128 g	0,035 g	in 11 Tagen	0,048 g	0,282 g
„ 16 „	0,120 „	0,070 „	„ 16 „	0,058 „	0,470 „
„ 23 „	0,185 „	0,170 „	„ 27 „	(0,157 „)	0,650 „
„ 30 „	0,225 „	0,122 „	—	—	—
„ 37 „	0,225 „	0,278 „	—	—	—
„ 47 „	0,215 „	0,255 „	„ 46 „	0,051 „	1,122 „
„ 66 „	0,298 „	0,267 „	„ 72 „	0,130 „	1,340 „
„ 143 „	0,218 „	0,522 „	„ 120 „	0,125 „	1,615 „

Bei bloßer Aenderung der Stickstoffquelle (Salmiak statt Ammonnitrat) ergab sich aber folgendes:

in 24 Tagen	0,418 g Pilzgew.	0 g Kalkoxalat
„ 30 „	0,413 „	0 „
„ 36 „	0,425 „	0 „
„ 90 „	0,375 „	0 „

Wenn Charpentier — einmal abweichend vom alten Schema der Raulinschen Nährlösung — seine Versuche mit Kreidezusatz gemacht hätte, so würde er wohl nicht konstatiert haben, daß da trotz reichlicher Säureansammlung alsbald Zuckermangel eintritt, hätte er sogar Salmiak als Stickstoffquelle versucht, so würde das sehr baldige Verschwinden des Zuckers, ohne daß überhaupt eine Spur Oxalsäure auftritt, vielleicht seine Verwunderung erregt haben und sicher wäre die Litteratur dann um eine zu haltlosen Folgerungen kommende Arbeit ärmer.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Biologie der Wasserbakterien.

[Aus dem botanischen Laboratorium von Prof. Dr. F. Czapek an der Deutschen technischen Hochschule in Prag.]

Von **Eduard Kohn**, Assistent am Institute.

Mit 3 Kurven.

### I. Aufgaben.

Die ungemein große Literatur über die in den natürlichen süßen Gewässern vorkommenden Bakterien umfaßt bis in die neueste Zeit zum weitaus überwiegenden Teile Untersuchungen, welche von rein praktischen Gesichtspunkten aus angestellt worden sind. Die Beurteilung der Wässer vom Standpunkte der öffentlichen Gesundheitspflege aus trat in den Vordergrund, und dementsprechend ist auch die Methodik vor allem in dieser Richtung ausgebildet worden.

Durch eine Reihe grundlegender Untersuchungen, von denen in erster Reihe die fundamentalen Arbeiten Winogradskys und Beijerincks zu nennen sind, wissen wir, daß die reiche Mikrobenflora der süßen Gewässer in zwei ernährungsphysiologische Gruppen zerfällt: in autotrophe und saprophytische Formen. Während in letzter Zeit besonders die ersteren in den nitrifizierenden, den Stickstoff fixierenden und den oligokarbohilien Bakterien studiert worden sind, hat die Phy-

siologie der an Zahl weitaus überwiegenden saprophytischen Formen bisher wenig Beachtung gefunden. Bekannt ist, wie aus verschiedenen, in der bakteriologischen Literatur zerstreuten Angaben hervorgeht, daß die Saprophytenflora des Süßwassers aus sehr verschieden anspruchsvollen Formen besteht, von denen die einen schon mit minimalen Nährstoffmengen auslangen, während die anderen mehr bis sehr viel an organischen Nährstoffen zu ihrem Gedeihen benötigen. So kommen, wie aus den Untersuchungen von Papenhausen<sup>1)</sup> hervorgeht, selbst im destillierten Wasser der Laboratorien zahlreiche Formen zur Entwicklung. Ferner wird vom *Micrococcus aquatilis* angegeben<sup>2)</sup>, daß er in sterilisiertem destillierten Wasser gute Vermehrung zeigt. Andererseits weiß man von einer Reihe von pathogenen Formen, daß sie augenscheinlich in nährstoffarmem Wasser ihr Fortkommen nicht mehr finden.

Unter natürlichen Verhältnissen treten nun alle diese Formen in Lebenskonkurrenz, und man hat zu erwarten, daß die Flora nach den Schwankungen des Gehalts an organischen Nährstoffen im Substrate Verschiedenheiten in ihrer Zusammensetzung zeigt, ähnlich wie eine Wiese oder ein Brachland Ueberwiegen bestimmter Phanerogamenarten je nach der Bodenbeschaffenheit aufweist. Ueberläßt man ein Quantum natürlichen Wassers sich selbst, ohne neue Nährstoffe hinzuzufügen, so müssen zunächst die anspruchvollsten saprophytischen Formen zur Entwicklung kommen, welche später durch beginnenden Nahrungsmangel im Gedeihen eingeschränkt werden und genügsameren Formen Platz machen, bis sich endlich eine Mikrobenflora von anspruchslosen Arten bleibend etabliert und einen unbestimmte Zeit hindurch andauernden Kreisprozeß der Stoffe aufrecht erhält. Im großen sehen wir auf ungedüngtem Kulturlande, welches viele Jahre hindurch sich selbst überlassen blieb, ähnliche Prozesse sich abspielen. Ein bekanntes einschlägiges Experiment wird alljährlich wiederholt in jedem mykologischen Laboratorium angestellt, wenn Pferdemit zur Anzucht verschiedener oft gebrauchter Pilze längere Zeit hindurch sich selbst überlassen, unter einer Glasglocke stehen bleibt und seine Flora, von *Mucor* und *Pilobolus* an bis zu den Becherpilzen und *Sordaria*, in wechselnder Erscheinungsform vorüberziehen läßt.

Bei der Anstellung solcher Untersuchungen über Wasserbakterien, bei der Feststellung der Zusammensetzung und Ueppigkeit der Flora in einer Wasserprobe während eines längeren Zeitraumes muß man schon einen gewissen Einblick in die Ernährungsverhältnisse einer Reihe von Formen erhalten und deren Ansprüche an den Nährstoffgehalt des Substrats richtig einschätzen lernen.

Auf Aufforderung des Herrn Prof. Czapek unternahm ich es, solche Untersuchungen wenigstens für einige wenige Fälle auszuführen und hiermit den Anfang zu einer Reihe bisher fehlender mikrobiologischer Erfahrungen zu machen. Man gelangt auf diese Weise sicher und relativ mühelos zu vielen anspruchsloseren Saprophytenformen, welche dann weiter als Material für manche ernährungsbiologische Studien geeignet sind. Auf Anregung des Herrn Prof. Czapek setzte ich mir hier als weitere Aufgabe, die minimalen Mengen verschiedener Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen zu bestimmen, welche eben noch gutes Wachstum bei einzelnen Mikrobenformen gestatten. Hierüber lagen fast gar keine

1) Pharmazeutische Zeitung. Bd. XLVI. 1901. p. 1004.

2) Lustig, Diagnostik der Bakterien. 2. Aufl. 1893. p. 39.

sicheren Daten vor, und ich hoffe, zeigen zu können, wie verschieden die Ernährungsbedingungen für die differenten Mikrobenarten sind und wie kleine Nährstoffmengen häufig ausreichen, um das Bakterienleben einige Zeit hindurch zu erhalten. Aber auch die obere Konzentrationsgrenze für die Kohlenstoff- und Stickstoffnahrung der Mikroben war von hervorragendem Interesse. Wissen wir doch durch die exakten Studien Winogradskys über die Nitrifikationsmikroben, daß für diese Organismen schon kleine Quantitäten von Zucker und Ammoniak stärker hemmend sind, als viele starke Gifte für höhere Pflanzen und Tiere. Gift und Nährstoff sind, wie wir heute wissen, nicht absolute, sondern nur relative Begriffe<sup>1)</sup>, und dieselbe Substanz kann für einen bestimmten Organismus in niederer Konzentration ein Nährstoff sein, in höherer Konzentration aber, ehe noch von osmotischen Wirkungen die Rede sein kann, Giftwirkungen entfalten. So mußte man darauf gefaßt sein, Wassermikroben zu finden, welche auf den gewöhnlichen Nährgelatineböden als zu reich an Zucker und Eiweiß nicht gedeihen, wohl aber auf nährstoffärmeren Substraten saprophytisch leben. Auch solche Erfahrungen wurden im Laufe meiner Untersuchungen gemacht.

Den Ausgangspunkt meiner experimentellen Arbeit bildeten Studien über die Reichhaltigkeit und Zusammensetzung der Mikrobenflora in größeren Wasserproben während längeren ruhigen Stehens. Als Versuchsbedingungen wurden gewählt: Verdunkelung und konstante Temperatur von 15 oder 29° C, als Ausgangsmenge 1 l Wasser. Als Behälter dienten Glasgefäße, wobei es nötig war, die Löslichkeit der verschiedenen Glassorten im Wasser zu berücksichtigen.

## II. Einfluß der Glasgefäße.

### Allgemeiner Gang der Gesamtvermehrung der Mikroben während längeren Stehens von Wasserproben.

Auf die Löslichkeit des Glases hat man bei genaueren chemischen Analysen stets Rücksicht zu nehmen. Wertvolle Angaben über dieses Thema verdanken wir den in neuerer Zeit erschienenen Untersuchungen von Mylius und Förster<sup>2)</sup>, deren Hauptresultate in der Tabelle I wiedergegeben sind. Für die Auswahl meiner Glasgefäße waren diese Resultate grundlegend, und ich habe je 2 Rundkolben aus Thüringer Glas, Kavalierglas, gewöhnlichem Natronglas und Schottglas verwendet; außerdem aber als fünfte Sorte gewöhnliche Natronglaskolben, welche  $\frac{3}{4}$  Stunde lang strömendem Wasserdampfe ausgesetzt waren<sup>3)</sup>. Fassungsraum der Kolben war in allen Fällen 1 l.

(Siehe Tabelle I p. 693.)

Nach dem Sterilisieren im Kochschen Dampftopfe (1 Stunde bei 100° C) wurden diese 10 Kolben mit 1000 ccm frisch bezogenen destillierten Wassers beschickt. Da die Gefahr vorlag, in diesem Falle eine für meine Untersuchungen zu geringe Zahl an verschiedenen Bakterienformen zu erhalten, wurde jeder Kolben noch mit je 1 ccm filtrierten Moldauleitungswassers geimpft (7. November 1904). An demselben Tage

1) Czapek, Biochemie der Pflanzen. Bd. II. 1905. p. 883.

2) Mylius und Förster, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. Bd. XXII. 1889. p. 1092.

3) Ostwald, Hand- und Hilfsbuch zur Ausführung physico-chemischer Messungen. I. Aufl. 1893. p. 294.

Tabelle I.

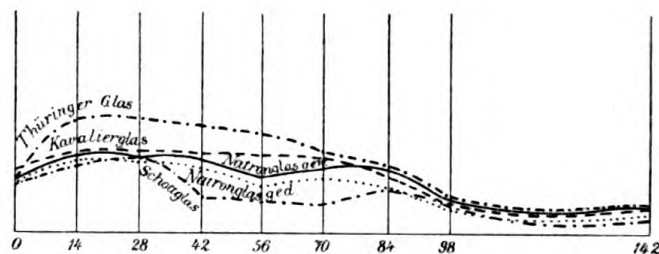
Bezeichnung des Glases	Unter- sucht von	Spezifi- sches Gewicht	Ange- wendete Menge in g	Summe des Ge- lösten in mg	Die von mir berech- nete mittlere Menge des Gelösten in Proz.
Thüringer Glas (schlechtes)	Förster	2,472	19,125	91,4	0,255
Glas von Tittel & Co. (Thüringer Glas)	Mylius	2,495	19,304	30,4	
Glas von Tittel & Co. (Thüringer Glas)	Förster	2,495	19,304	25,3	
Böhmisches Kavalierglas	Mylius	2,387	18,468	10,1	0,058
Böhmisches Kavalierglas	Förster	2,387	18,468	11,5	
Fensterglas (Natronglas)	Mylius	2,451	18,963	8,4	0,044
Fensterglas (Natronglas)	Förster	2,451	18,963	9,4	
Thermometerglas von Jena	Mylius	2,585	20,000	6,4	0,029
Thermometerglas von Jena	Förster	2,585	20,000	5,4	

wurden mit je 1 ccm aus je einem Kolben der fünf verschiedenen Glas-sorten Platten gegossen, worauf die Kolben im Thermostaten bei 29° C aufgestellt wurden. Die zugehörige zweite Reihe der Kolben wurde in der Dunkelkammer bei 15° C aufgestellt.

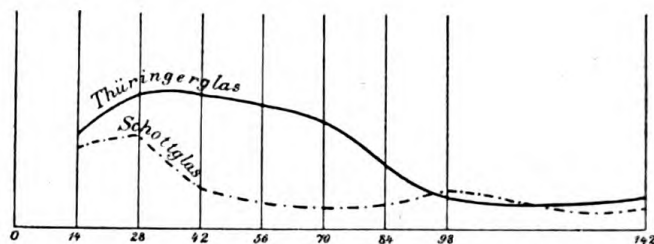
In einem weiteren Versuche wurde statt filtrierten Moldauwassers ein anderes reineres natürliches Wasser, welches ich selbst unter den üblichen Kautelen einer Quelle bei der in der Nähe, jedoch hoch über Prag gelegenen Ortschaft Zdib entnahm, als Impfwasser benutzt (5. April 1905). Da die Aufstellung dieses Versuches in einem Zeitraume erfolgte, wo mir die Resultate bezüglich des Einflusses des Glases durch den ersten Versuch bereits bekannt waren, beschränkte ich mich auf die Anwendung jener drei Glassorten, die am meisten charakteristische Unterschiede zeigten, also: Thüringer Glas, Natronglas und Schottglas. Auch auf den Einfluß der Temperatur wurde nicht mehr Rücksicht genommen.

Das Gießen der Platten geschah in dem ersten Versuche anfangs in 14-tägigen Zwischenräumen, im zweiten jede dritte Woche. Die folgenden Tabellen, unterstützt durch die beigefügten Wachstumskurven, geben über die Vermehrung der Mikroben Aufklärung. Das Auszählen der Platten geschah mit dem Lafarschen Apparate. Die Keimzahl war zunächst in allen Gläsern dieselbe, nahm sodann zu; am meisten wuchs sie im Thüringer Glase, am wenigsten im Schottglase an. Später wurde jedoch der Unterschied in der Keimzahl in allen Gläsern fast null. Nach 98-tägigem Stehen in der Dunkelkammer war beim Versuche mit Moldauwasser die Kolonienzahl im Schottglase sogar höher als jene im Thüringer Glase. Dem gedämpften Natronglase, bezüglich dessen Angaben über Löslichkeit im Wasser fehlen, konnte auf diese Weise der Platz zwischen gewöhnlichem Natronglas und Schottglas angewiesen werden, und man vermochte auf diese Art Anhaltspunkte zur Beurteilung der Löslichkeit der Gläser zu gewinnen.

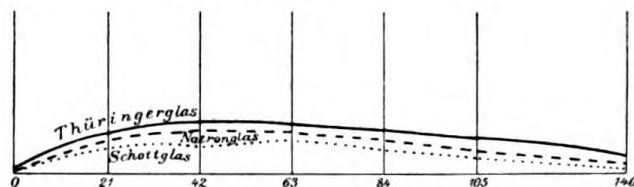
Höhere Temperatur bedingte nur insofern einen Effekt, als die Kurve der Vermehrungsenergie anfangs steiler anstieg (ohne höher gelegenen Maximalpunkt) und schneller zurückging. Hierzu wolle man die untenstehenden Kurven vergleichen.



Kurve 1 der Wachstumsbewegung in den mit Moldau-Leitungswasser geimpften Kolben bei 29 °.



Kurve 2 der Wachstumsbewegung in den mit Moldau-Leitungswasser geimpften Kolben bei 15 °.



Kurve 3 der Wachstumsbewegung in den mit Zdiber-Wasser geimpften Kolben bei 15 °.

In allen Kurven die Abscissen: 1 mm = 2 Tage.

In allen Kurven die Ordinaten: 1 mm = 200 Kolonien.

Tabelle II.

Die Bewegung des Wachstums in den Kolben mit destilliertem Wasser  
+ 1 ccm Moldauwasser.

Zahl der Kolonien auf einer Platte aus 1 ccm:

Thermostat (29° C)

Bezeichnung der Glassorte	Am Tage der Impfung	Nach 4-tägig. Stehen	Nach 28-tägig. Stehen	Nach 42-tägig. Stehen	Nach 56-tägig. Stehen	Nach 70-tägig. Stehen	Nach 84-tägig. Stehen	Nach 98-tägig. Stehen	Nach 142-tägig. Stehen
Thüringer Glas	1724	3028	3032	2984	2840	1888	1600	720	608
Kavalierglas	1744	1900	1880	1864	1824	1832	1360	644	592
Natronglas (gewöhnl.)	1708	1824	1840	1808	1752	1328	1512	760	664
Natronglas (gedämpft)	1728	1784	1808	1608	1568	1848	1280	768	592
Schottglas	1708	1792	1800	896	880	800	1240	744	472

Dunkelkammer (15° C)

Bezeichnung der Glassorte	Nach 14-tägig. Stehen	Nach 28-tägig. Stehen	Nach 42-tägig. Stehen	Nach 56-tägig. Stehen	Nach 70-tägig. Stehen	Nach 84-tägig. Stehen	Nach 98-tägig. Stehen	Nach 142-tägig. Stehen
Thüringer Glas	2616	3024	3008	2944	2504	1512	756	776
Kavalierglas	1852	2000	1920	1896	1912	1524	820	584
Natronglas (gewöhnl.)	1792	1840	1760	1680	1792	1448	876	624
Natronglas (gedämpft)	1764	1800	1536	1512	904	1336	800	608
Schottglas	1756	1784	856	840	776	976	836	544



Tabelle III.

Die Bewegung des Wachstums in den Kolben mit destilliertem sterilisiertem Wasser  
+ 1 ccm Zdbierwasser.

Kolonieenzahl auf einer Platte aus 1 ccm:

Dunkelkammer (15° C)

Bezeichnung der Glassorte	Am Tage der Impfung	Nach 21-tägig. Stehen	Nach 42-tägig. Stehen	Nach 63-tägig. Stehen	Nach 84-tägig. Stehen	Nach 105-tägig. Stehen	Nach 140-tägig. Stehen
Thüringer Glas	119	1064	1180	1108	956	788	552
Natronglas	108	788	1032	896	896	712	392
Schottglas	109	606	928	736	776	752	316

Tabelle IV.

Kolonieenzahl aus je 1 ccm:

Bezeichnung der Glassorte	a) Destilliertes Wasser allein					b) Destilliertes sterilisiertes Wasser + 1 ccm Leitungswasser				
	Am Tage des Einfüllens	Nach 14-tägig. Stehen	Nach 28-tägig. Stehen	Nach 42-tägig. Stehen	Nach 90-tägig. Stehen	Am Tage des Einfüllens	Nach 14-tägig. Stehen	Nach 28-tägig. Stehen	Nach 42-tägig. Stehen	Nach 90-tägig. Stehen
Thüringer Glas	412	2064	1940	1684	348	1408	2016	2112	700	244
Natronglas	408	1196	1264	1268	336	1136	2000	1996	464	260
Schottglas	416	828	636	764	308	1056	936	1036	396	272

### III. Veränderung in der Zusammensetzung der Mikrobenflora bei längerem Stehen von Wasserproben.

#### 1. Kontrolle mittels Gelatineplattenkulturen.

Hand in Hand mit der Veränderung des Keimgehaltes schritt auch die Veränderung in der Florenzusammensetzung.

##### a) Versuch mit verdünntem Moldauleitungswasser.

Auf den am Tage der Versuchsaufstellung (7. November 1904) gegossenen Platten traten nach 3-tägigem Stehen kleine, weiße Kolonien auf; am 4. Tage erfolgte Verflüssigung der Gelatine. Die Kolonien bestanden aus verschiedenen langen dünnen Stäbchen mit Eigenbewegung. In Gelatineröhrchen zeigte der *Bacillus* nur Oberflächenwachstum, nach 5 Tagen einen Verflüssigungstrichter; nach 5 Monaten war der ganze Inhalt des Röhrchens braun. Agarkulturen: Zunächst Entwicklung weißer Kolonien an der Oberfläche, die einen sehr schwachen Perlmutterglanz zeigten; nach 6 Tagen war der ganze Röhreninhalt braun. Kartoffelscheiben: Längs des Impfstiches zuerst eine gelbe Auflagerung, dann die ganze Oberfläche braun. Ältere Kulturen zeigten Geruch nach Schwefelwasserstoff. Demnach handelte es sich um den von Sanarelli<sup>1)</sup> im Wasser mehrerer Brunnen gefundenen *Bacillus hydrophilus fuscus*. Eine andere Form konnte jetzt auf keiner Platte gefunden werden.

Am 21. November waren auf einer Platte (Schottglas, Thermostat) neben dem *Bacillus hydrophilus fuscus* 59 Kolonien einer neuen Form, die sich bedeutend rascher als die erste entwickelten, aufgetreten. und zwar waren dies kleine dicke Stäbchen ohne Eigenbewegung. Auf Gelatineplatten war die Mitte der Kolonien etwas dunkler gefärbt, von einer weißen Zone umgeben. Gelatineröhrchen zeigten eine grünliche Fluoreszenz, keine Verflüssigung. Agarkulturen: grünliche Fluoreszenz besonders schön, vorher Entwicklung eines weißen Belages an der Oberfläche, der dann etwas grauweiß wurde. Aerobier, Indolbildung. Dies war: *Bacillus fluorescens immobilis*<sup>2)</sup>.

Am 5. Dezember (nach 28-tägigem Stehen) war der *Bacillus hydrophilus fuscus* nur mehr auf einer Platte (Thüringer Glas, Thermostat) nachzuweisen. Dafür

1) Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. Bd. II. 1896. p. 321.

2) Matzschita, Bakteriologische Diagnostik. 1. Aufl. 1902. p. 488.

Tabelle  
Die Verteilung der Flora

	Bacillus hydrophilus fuscus					Bacillus fluorescens immobilis					Rote Torula			
	Thüringer Glas	Kavalierglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas	Thüringer Glas	Kavalierglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas	Thüringer Glas	Kavalierglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft
Am Tage des Impfens	1724	1744	1708	1718	1708	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 14-tägigem Stehen	3028	1900	1824	1784	1733	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 28-tägigem Stehen	48	—	—	—	—	2984	1880	1840	1808	1797	—	—	—	3
Nach 42-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	754	680	540	208	15	98	82	81	73
Nach 56-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	54
Nach 70-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 84-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 98-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 142-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle  
Die Verteilung der Flora

	Bacillus hydrophilus fuscus					Bacillus fluorescens immobilis					Rote Torula			
	Thüringer Glas	Kavalierglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas	Thüringer Glas	Kavalierglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas	Thüringer Glas	Kavalierglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft
Am Tage des Impfens	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 14-tägigem Stehen	2616	1852	1792	1764	1756	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 28-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	3024	2000	1840	1800	1732	—	—	—	52
Nach 42-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	719	573	316	219	53	104	98	71	46
Nach 56-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	51
Nach 70-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 84-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 98-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 142-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

## V.

(Moldauwasser, Thermostat 29° C).

Sarcina alba					Bacillus cuticularis					Bacillus violaceus					Bacillus ruber					Sarcina flava				
Thüringer Glas	Kavaliertglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas	Thüringer Glas	Kavaliertglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas	Thüringer Glas	Kavaliertglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas	Thüringer Glas	Kavaliertglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas	Thüringer Glas	Kavaliertglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas
2132	1102	1187	1327	818					9															
2753	1701	1418	1410	395						87	123	334	158	485										
856	756	780	543	434											966	960	420	1061	41	66	116	128	244	325
778	698	524	412	318																822	662	988	868	922
																				720	644	760	768	744
																				608	592	664	592	472

## VI.

(Moldauwasser, Dunkelkammer bei 15° C).

Sarcina alba					Bacillus cuticularis					Bacillus violaceus					Bacillus ruber					Sarcina flava				
Thüringer Glas	Kavaliertglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas	Thüringer Glas	Kavaliertglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas	Thüringer Glas	Kavaliertglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas	Thüringer Glas	Kavaliertglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas	Thüringer Glas	Kavaliertglas	Natronglas gewöhnlich	Natronglas gedämpft	Schottglas
2185	1249	1373	1271	737					15															
2871	1670	1581	1470	296						73	226	99	42	529										
943	870	816	685	346											1451	924	853	23	62	110	118	123	196	368
814	806	724	619	394																698	718	724	717	582
15																				741	820	876	800	836
																				776	584	614	608	544

hatte sich der *Bacillus fluorescens immobilis* stark entwickelt. Auf einer Platte (Schottglas) war außerdem ein Sproßpilz, der ein rotes Pigment bildete, aufgetreten: Zellform fast kreisrund, in älteren Kulturen war Vorhandensein von zellkernartigen Gebilden zu konstatieren. Gelatineplatten und -Röhrchen ergaben kreisrunde Kolonien von rosaroter Farbe, nur an der Oberfläche wachsend, nicht verflüssigend. Nach einiger Zeit sanken aber die Kolonien ein. Auf Agar war die Farbe etwas dunkler. Kartoffelkulturen zeigten gutes Wachstum und hellrote Färbung. Ich bezeichne diesen Mikroben provisorisch als: „Rote Torula“. In der Literatur wird von einer „roten Torula“ resp. von *Torula rosea* und dann auch von einer weißen *Torula* (*Torula alba*) genug oft gesprochen; doch sind die Angaben über die morphologischen und biologischen Eigenschaften lückenhaft und widersprechend. Lindner<sup>1)</sup> erwähnt eine siegellackrote Torulaart, die nach der Abbildung und der Angabe von sichtbaren zellkernartigen Gebilden mit der von mir beschriebenen Art identisch sein könnte, doch fehlen eingehendere Beschreibungen. Kramer<sup>2)</sup> erwähnt eine rote, obergährige Torulahefe, welche einen roten, in Wasser löslichen Farbstoff bildet. Golden und Ferris<sup>3)</sup> beschreiben zwei rote Hefen, welche als *Saccharomyces rosaceus* und *Saccharomyces glutinis* bezeichnet werden. Harrison<sup>4)</sup> berichtet über das Vorkommen der *Torula rosea* und *Torula alba* in Käse, Teichert<sup>5)</sup> fand sie auf Butter. In neuester Zeit hat H. Will<sup>6)</sup> über das Hervorrufen des roten Grünmalzes durch eine rote Torulaart berichtet; aber auch da fehlt die genaue Beschreibung des Mikroben.

Am 19. Dezember (nach 42-tägigem Stehen) war eine neue Form, welche das mikroskopische Bild einer *Sarcina* zeigte, aufgetreten. Gelatineplatten und -Röhrchen zeigten kleine, runde Kolonien, erst nach einiger Zeit verflüssigend; der Rand sah dann wie benagt aus. Agarkulturen: Auf der Oberfläche grauweiße Auflagerung, die sich gegen die Mitte zu emporhob, doch war der Belag nicht so üppig wie auf Gelatine. Kartoffelkulturen zeigten längs des Impfstiches einen schmutzigweißen Belag. Färbung nach Gram gelang nicht. Es war die von Zimmermann und Gruber<sup>7)</sup> beschriebene *Sarcina alba*.

Eine Platte (Schottglas, Thermostat) zeigte noch einen neuen *Bacillus* mit geringer Eigenbewegung zu kurzen Filamenten vereinigt. Auf Gelatinekulturen rasche Verflüssigung unter Produktion eines gelben Farbstoffes. An der Oberfläche schwamm eine derbe, in der Mitte gelb gefärbte Haut. Agarkulturen: zuerst weißliche, ziemlich ausgebreitete Kolonien von rundlicher Form, welche sich später gelblich färbten. Die Kartoffelscheiben wiesen einen schleimigen, schmierigen gelben Belag auf. Ältere Kulturen, besonders Gelatinekulturen, entwickelten Geruch nach Schwefelwasserstoff und schwärzten Bleipapier. Dieser Aërobier wurde von Tils<sup>8)</sup> als *Bacillus cuticularis* beschrieben. (Siehe Tabellen V u. VI p. 696 u. 697.)

Am 2. Januar 1905 (nach 56-tägigem Stehen) waren aus den Platten zwei neue Arten zu isolieren, wovon die eine ein blaues, die andere ein rotes Pigment produzierte. Erstere war ein kurzer *Bacillus* mit schwacher Eigenbewegung. Gelatineröhrchen und -Platten zeigten rasche Verflüssigung unter Bildung eines blauvioletten Farbstoffes. Später wurde ein blauer Bodensatz gebildet, während auf der Oberfläche violette Häutchen schwammen. Auf Agarkulturen nahm die Farbe einen fast schwarzen Ton an. Auf Kartoffelscheiben erschien erst nach einiger Zeit ein minimaler Belag: *Bacillus violaceus*<sup>9)</sup>.

Der zweite *Bacillus*, der ebenfalls aërobes Wachstum zeigte, war ein kurzes Stäbchen, mit lebhafter Eigenbewegung. Gelatineröhrchen: schnelle trichterförmige Verflüssigung mit schön rotvioletttem Bodensatz. Agarkulturen zeigten einen metallisch glänzenden Belag, der an die Farbe des Fuchsins erinnerte. Auf Kartoffelscheiben war eine rotviolette Auflagerung erkennbar: *Bacillus ruber*<sup>10)</sup>.

Die Untersuchung der Platten am 16. Januar (nach 70-tägigem Stehen) ergab das

- 1) Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle. 3. Aufl. 1901. p. 391. Abbild. 199.
- 2) Kramer, Oesterreich. landwirtschaftl. Centralblatt. Bd. I. 1891. p. 11.
- 3) Golden und Ferris, The Botanical Gazette. Bd. XXV. 1898. p. 39.
- 4) Harrison, Centralblatt f. Bakt., Abt. II. Bd. XI. 1904. p. 637.
- 5) Teichert, Centralblatt f. Bakt., Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 560.
- 6) Will, Zeitschr. für das gesamte Brauwesen. Bd. XXVIII. 1905. p. 128.
- 7) Zimmermann, Die Bakterien unserer Nutz- und Trinkwässer, insbesondere der Chemnitzer Wasserleitung. Chemnitz 1890 u. 1894. p. 90.
- 8) Tils, Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. IX. 1893. p. 293.
- 9) Lustig, Die Diagnostik der Bakterien des Wassers. 2. Aufl. 1893. p. 75.
- 10) Zimmermann, Die Bakterien unserer Nutz- und Trinkwässer, insbesondere der Chemnitzer Wasserleitung. Chemnitz 1890 u. 1894. p. 24.

Auftreten einer Sarcinaform, die etwas kleiner als die oben beschriebene *Sarcina alba* war. In Gelatineröhrchen war nur in den Stichkulturen erst nach langer Zeit eine Erweichung der Gelatine zu beobachten. Die Farbe der Kolonien war goldgelb, auf Agarkulturen etwas dunkler gefärbt und trüber. Die Kartoffelscheiben waren längs des Impfstriches mit einer goldgelben Auflagerung bedeckt. Es war ein Aërobium, das auf Platten erst am 6. Tage erschien und sehr langsam in kleinen Kolonien wuchs. Es handelte sich um die *Sarcina flava* de Bary<sup>3)</sup>.

Erwähnenswert erscheint, daß es immer wieder die Kolben aus Schottglas waren, die zuerst das Auftreten einer neuen Flora anzeigten, worauf sich diese Formen auch in den anderen Platten auffinden ließen.

#### b) Versuch mit verdünntem Quellwasser aus Zdib.

Die Flora in diesem Versuche, wo 1 Liter destilliertes sterilisiertes Wasser mit 1 ccm Zdiber Wasser geimpft war, zeigte am Tage der Aufstellung 2 Bacillenarten, von denen die eine, in großer Zahl vorhanden, ein gelbes, die andere nur spärlich vertretene ein rotes Pigment bildete (Tabelle VII). Der gelbe Bacillus war ein unbewegliches, dünnes, zu langen Fäden vereinigt Stäbchen. Auf Gelatineplatten und -Röhrchen erschienen runde goldgelbe Kolonien, welche rasch verflüssigten. Agarkulturen zeigten eine über die ganze Oberfläche sich ausbreitende goldgelbe Auflagerung. Auf Kartoffelscheiben zeigte dieses Aërobium einen dunkelgelben bis kaffeebraunen Belag: *Bacillus flavens*<sup>4)</sup>.

Die roten Kolonien bildete ein kleiner Bacillus mit abgerundeten Enden ohne Eigenbewegung. Auf Gelatineplatten und -Röhrchen wuchs derselbe schnell und verflüssigte sie, einen roten Bodensatz bildend in 3 Tagen. Die Farbe war gelbroth, karotinartig, die Agarkulturen mehr siegellackfarbig. Kartoffelscheiben zeigten schöne karminrote metallisch-glänzende Auflagerung: *Bacillus ruber aquatilis*<sup>5)</sup>.

Schon nach 3-wöchentlichem Stehen (26. April) zeigte sich auf einer Platte (Schottglas) eine neue Form, bestehend aus einem kurzen Stäbchen ohne Eigenbewegung auf Gelatineplatten und -Röhrchen tellerförmig verflüssigend. Die Kolonien waren besonders auf Agar schön weiß, während auf Kartoffelscheiben die ganze Oberfläche von einer weißen Vegetation überzogen war, deren Farbe nicht so rein weiß wie auf Agar war. Indolbildung war zu beobachten. Es handelte sich um *Bacillus candidus* bzw. *albus liquefaciens*<sup>6)</sup>.

Am 17. Mai (nach 42-tägigem Stehen) war die Mikrobenflora ganz verändert. Die beiden zuerst gefundenen Bacillen fehlten. Dafür traten die *Sarcina alba* und *Bacillus violaceus*, die schon im Versuche mit Moldauleitungswasser gefundenen Formen, auf.

Am 7. Juni (nach 63-tägigem Stehen) war auf 2 Platten (aus Natronglas und Schottglas) eine neue Torulaform aufzufinden, die auf Gelatineplatten und -Röhrchen kreisrunde Kolonien bildete und rasch verflüssigte, wobei sich am Boden des Stichkanals eine grauweiße fettige Masse ablagerte. Der Belag auf Agar war weiß, glänzend und plastisch. Von der emporgewölbten Mitte gingen weiße Streifen nach der Peripherie nach allen Richtungen aus. Auf Kartoffelscheiben war eine ziemlich starke gelbweiße Wucherung zu beobachten. Auch diese Form will ich provisorisch als „weiße Torula“ bezeichnen und es gilt bezüglich der Literaturangaben über diesen Sproßpilz dasselbe was von der roten Torula erwähnt wurde; die Angaben sind eher noch spärlicher als bezüglich *Torula rosea*. Flügge<sup>7)</sup> erwähnt bei der Besprechung der Torulaarten, daß das Vorkommen einer roten und weißen Hefe ein häufiges ist. Hoyer<sup>8)</sup> verwendete bei seiner Arbeit über die Generationsdauer verschiedener Hefearten eine *Torula alba*, doch fehlt deren Beschreibung.

Am 28. Juni (nach 84-tägigem Stehen) war im Schottglase noch ein Mikrobe aufgetreten, der dann nach 105-tägigem (19. Juli) und 140-tägigem Stehen (20. August) nur noch mit der weißen Torula vorkam und in letzterem Versuche auf einer der Platten (Schottglas) ganz allein aufzufinden war. Es war *Micrococcus aquatilis*<sup>9)</sup>. Kleine Kokken ohne Eigenbewegung in unregelmäßiger Gruppierung, aërob. Auf Gelatine-

3) Lindner, Die Sarcinaorganismen der Gärungsgewerbe. Inaug.-Dissert. Berlin 1888. p. 50

4) Lustig, Diagnostik der Bakterien des Wassers. 2. Aufl. 1893. p. 78.

5) Lustig, Diagnostik der Bakterien des Wassers. 2. Aufl. 1893. p. 72.

6) Matzuschita, Bakteriologische Diagnostik. 1. Aufl. 1902. p. 180.

7) Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. Bd. II. 1896. p. 45.

8) Hoyer, Centralblatt für Bakteriologie, II. Abt. Bd. V. 1899. p. 703.

9) Bolton, Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. I. 1889. p. 94. Matzuschita, Bakteriologische Diagnostik. 1. Aufl. 1902. p. 388.

platten und -Röhrchen weiße Kolonien, porzellanartig glänzend. Die Auflagerung an der Oberfläche verbreitete sich fächerförmig; tiefer im Stichkanal besaß die Vegetation buchtigen Umriß und braungelbe Färbung. Die Gelatine wurde verflüssigt. Agarkulturen und Kartoffelscheiben zeigten einen weißen Belag.

Tabelle VII.  
Die Verteilung der Flora (Zdiberwasser bei 15°).

	Bac. flav.			Bac. ruber aquatilis			Bac. candid. liquefaciens			Sarc. alba			Bac. violac.			Weiße Torula			Micrococcus aquatilis		
	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas
Am Tage des Impfens	108	101	98	11	7	11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 21-täg. Stehen	497	372	308	567	416	286	—	—	12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 42-täg. Stehen	—	—	—	—	—	—	536	476	318	539	509	425	105	47	185	—	—	—	—	—	—
Nach 63-täg. Stehen	—	—	—	—	—	—	106	75	—	939	722	534	63	84	104	—	15	98	—	—	—
Nach 84-täg. Stehen	—	—	—	—	—	—	75	—	—	145	394	523	30	46	75	706	456	115	—	—	63
Nach 105-täg. Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	174	194	345	614	518	407
Nach 140-täg. Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	136	11	—	416	381	316

Für den Versuch mit verdünntem Moldauleitungswasser wollte ich noch entscheiden, welche Formen aus diesem bzw. aus dem destillierten Wasser stammten. Daher wurden am 4. Januar 1905 drei Literkolben aus Thüringer, Natron- und Schottglas sterilisiert und mittelst eines sterilen Meßkolbens mit 1000 ccm destillierten Wassers gefüllt. Drei weitere Kolben derselben Art wurden mit 1000 ccm destillierten Wassers gefüllt, sterilisiert und sodann mit 1 ccm Moldauleitungswasser geimpft. Die Wachstumsbewegungen, welche analog den Hauptversuchen verliefen, sind in Tabelle IV, die Aenderung der Mikrobenflora in Tabelle VIII und IX angegeben. Das Fehlen des *Bacillus hydrophilus fuscus* in dieser Flora fiel mir auf. Ich habe zu derselben Jahreszeit (Herbst 1905) sowohl im Moldauwasser als im destillierten Wasser nach demselben wieder gesucht, ihn aber nicht mehr gefunden.

Tabelle VIII.  
Die Verteilung der Flora (1000 ccm destilliertes Wasser allein).

	Bac. fluor. immob.			Rote Torula			Bac. violac.			Sarc. alba			Bac. ruber			Sarc. flava		
	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas
Am Tage des Einfüllens	318	310	315	—	—	—	94	106	93	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 14-tägigem Stehen	—	—	—	996	763	715	15	—	—	1053	433	113	—	—	—	—	—	—
Nach 28-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	436	115	75	862	770	514	—	—	—	642	379	47
Nach 42-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	50	—	—	613	312	—	23	—	—	998	956	764
Nach 90-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	348	336	308



Tabelle IX.

Die Verteilung der Flora (1000 ccm sterilisiertes destilliertes Wasser und 1 ccm Leitungswasser).

	Rote Torula			Bac. violac.			Sarc. alba			Sarc. flava		
	Thür. Glas	Natronglas gewöhnlich	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas	Thür. Glas	Natronglas	Schottglas
Am Tage des Einfüllens	415	381	392	474	259	186	519	496	478	—	—	—
Nach 14-tägigem Stehen	575	958	42	96	126	198	1345	916	696	—	—	—
Nach 28-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	736	415	95	1376	1581	941
Nach 42-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	700	464	396
Nach 90-tägigem Stehen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	244	260	272

## 2. Kontrolle mittelst Platten aus nährstoffarmem Substrate.

Um eine vollständige Untersuchung der Mikrobenflora des Wassers auszuführen, war es notwendig, außer mit den gewöhnlichen Nährgelatineböden noch mit anderen Substraten unter Vermeidung von reichlicher Darbietung organischer Nahrung zu operieren. Ich verwendete für meine Untersuchungen Gipsplatten und Filtrierpapierböden (glattes aschenfreies Filtrierpapier). Beide wurden, um eventuell weiße Kolonien bemerkbar zu machen, mit etwas Graphit eingerieben. Nachdem ich gefunden, daß diese Böden für das Wachstum der roten Torula geeignet waren, wurden sie für weitere Untersuchungen verwendet. Die Nährstoffe bestanden aus einem Dekokt aus Thüringer Glas, welches dem Gips beim Anmachen zugegeben wurde. Die Filtrierpapierböden wurden gleichfalls mit diesem Glasdekot befeuchtet. Nach der Sterilisierung wurden die Platten mit je 1 ccm Wasser aus den verschiedenen Glaskolben geimpft und nach der Verteilung des Impfmateri als an der Oberfläche, in einer feuchten Kammer aufgehoben. Trotzdem dies zu einer Zeit (15. Dezember 1904) erfolgte, wo die Kolonien des *Bacillus fluorescenz immobilis*, der roten Torula, der *Sarcina alba* und des *Bacillus cuticularis* auf den Nährgelatineböden zu konstatieren waren, traten alle diese Formen weder auf den Gips- noch den Filtrierpapierböden auf, da für sie offenbar die zur Verfügung stehende Nahrung nicht genügend war. Es erschienen nur die zuletzt im Moldauleitungswasser aufgetretenen, also relativ anspruchslosesten Formen: nämlich der *Bacillus ruber* und die *Sarcina flava*. Auf den Gipsböden war der *Bacillus ruber*, auf den Filtrierpapierböden die *Sarcina flava* in überwiegender Mehrheit aufgetreten.

## 3. Kontrolle mittelst Konzentrations-(Anhäufungs-) Versuchen.

Diese Art von Versuchen ist unbedingt nötig, um eine vollständige Analyse der Mikrobenflora des Wassers zu erhalten, denn es können sich hier eventuell Formen entwickeln, denen einfachere Kohlenstoffverbindungen eine bessere Nährstoffquelle abgeben als Traubenzucker. In Erlenmeyerkölbchen von einem Fassungsraume von 200 ccm wurden in je 100 g destillierten Wassers je 3 g von folgenden verschiedenen

Substanzen aufgelöst: Glycerin, Weinsäure, Milchsäure, Kaliumacetat, Bernsteinsäure, Aethylalkohol, Natriumformiat, Harnstoff, Glykolsäure, Oxymethylsulfosäure, Methylalkohol, Methylal. Als Stickstoffquelle wurde überall 1 g Ammoniumphosphat verwendet. Die sauer reagierenden Lösungen wurden mit Aetzkali, die schwach alkalische Kaliumacetatlösung mit einem Tropfen Essigsäure gegen Lackmus genau neutralisiert. Die Sterilisierung von Lösungen flüchtiger Stoffe sowie der Harnstofflösung erfolgte mittels Pukallscher Filter. Diese Filter wurden zuerst auf Keimdichtigkeit untersucht indem eine Flüssigkeit, welche *Bacillus prodigiosus* enthielt, durchfiltriert und das Filtrat derselben auf Bakteriengehalt geprüft wurde. Erst nach dieser bestandenen Probe kamen die Filter zur Anwendung. Jedem Kolbeninhalte wurde mittelst einer sterilen Pipette 1 ccm Wasser aus den beiden Hauptversuchen (Moldauwasser oder Zdiber Quelle) zugesetzt. Die Aufstellung der Versuche mit Moldauwasserimpfung erfolgte am 15. Dezember 1904, also zu einer Zeit, wo der *Bacillus hydrophilus fuscus* nicht mehr vorhanden war, während der zweite Versuch sofort mit der Aufstellung des Hauptversuches in Gang gesetzt wurde. Hier wurde auch die Methylallösung zufolge der bereits bekannten Erfahrungen des ersten Versuches weggelassen.

Zum Plattengießen verwendete ich nur einmal die obengenannten festen Böden, die hier mit derjenigen Lösung benetzt wurden, welche dem betreffenden Konzentrationsversuche entsprach, z. B. 3 Proz. Methylalkohol und 1 Proz. Ammoniumphosphat. Wegen der Nachteile dieser Böden, auf denen die Kolonien wenig abgegrenzt zur Entwicklung kamen, ersetzte ich dieselben später durch mit kochendem Wasser extrahierten Agar, dem ebenfalls die betreffende Kohlenstoffverbindung (3 Proz.) und Ammoniumphosphat (1 Proz.) zum Plattengießen zugesetzt wurde. Diese Böden eigneten sich in vorzüglicher Weise für meine Experimente und hatten nur den einzigen Nachteil, daß durch das sich an der Oberfläche sammelnde Kondenswasser beim Aufgehen sehr zahlreicher Kolonien oft Vermischung der einzelnen Arten eintrat. Auf Vorschlag des Herrn Prof. Czapek wendete ich zur Vermeidung zu dichter Aussaat eine Methode an, die sich vorzüglich bewährte und mir viel Zeit ersparte. Ich feilte mir auf dem zur Impfung dienenden Platindrahte eine Marke, einige Millimeter vom Ende entfernt, ein. Der sterilisierte Draht wurde bis zu dieser Marke in das Bakteriengemisch des Kölbchens eingeführt. Auf einem Gestelle war nun eine Reihe von Reagensröhrchen vorbereitet, welche genau abgemessen je 4 ccm sterilisierten Wassers enthielten. Der Impfdraht wurde nun in das erste Röhrchen bis zur Marke eingetaucht und die infizierte Flüssigkeit gut umgeschüttelt. Der neuerdings sterilisierte Draht wurde jetzt nochmals bis zur Marke in Röhrchen I eingetaucht und die anhaftende Flüssigkeit in das sterile Röhrchen II durch Eintauchen des Drahtes bis zur Marke übertragen. Nun wurde Röhrchen II umgeschüttelt, aus demselben durch den neuerdings bis zur Marke eingetauchten sterilen Impfdraht Flüssigkeit entnommen und in Röhrchen III übertragen, durch Eintauchen des Drahtes bis zur Marke. In gleicher Weise wurden die folgenden Röhrchen infiziert und so immer weitergehende Verdünnungen erhalten. Ich überzeugte mich bald, daß die Verdünnung in dem fünften Röhrchen für mich regelmäßig die brauchbarste war.

Die Verteilung der Flora nach 5-tägigem, 4-, 8- und 12-wöchent-



lichem Stehen des Versuches mit Moldauwasser ist in der Tab. X (p. 704—705) wiedergegeben. Bereits nach 5 Tagen konnte man in den meisten Kölbchen eine Trübung wahrnehmen, die in Glycerin, Weinsäure und Milchsäure intensiv zunahm. Am 7. Tage zeigte sich in diesen getrübbten Proben und in den Versuchen mit Kaliumacetat, Bernsteinsäure, Aethylalkohol und Harnstoff eine schöne opaleszierende Färbung der Flüssigkeit; am 10. Tage hatte die ganze Flüssigkeit eine grünfluoreszierende Färbung angenommen. Die Proben mit Glykolsäure, Oxymethylsulfosäure, Methylalkohol und Methylal blieben zunächst noch klar. Nach 3-wöchentlichem Stehen trat ein Erblässen der schönen Fluoreszenz ein; in dem Kolben mit Aethylalkohol entstand eine weiße Decke, in jenem mit Glycerin eine weiße, schaumige Oberfläche, während eine schwache Trübung auch in den bis dahin klar gebliebenen Versuchen zu bemerken war. Eine Ausnahme machte nur Methylal. In der Natriumformiatlösung entstand eine zarte, goldgelbe Färbung, während sich am Boden feine Klümpchen eines Niederschlages festsetzten, die etwa das Aussehen von Kaliumplatinchlorid hatten. Dieser Zustand war dann lange Zeit ein konstanter; nur verschwand die auf Glycerin gebildete schaumige Decke allmählich und die auf Aethylalkohol gebildete Haut sank zu Boden. Die schönen Farbentöne erblaßten allmählich und am Schlusse war der Kolbeninhalt von einem zarten Gelb im Methylalkohol bis zu dunkelgelb im Glycerin, Bernsteinsäure und Milchsäure erfüllt. Die anderen Proben waren mehr oder weniger stark gelb gefärbt, in dem Maße, als die *Sarcina flava* (denn von dieser rührte die Gelbfärbung her) die anderen Formen verdrängt hatte.

In der Aethylalkohollösung hatten sich zwei von mir noch nicht isolierte Formen, die an der aufgetretenen Hautbildung partizipierten, bestimmen lassen. Die erste war ein Mikrobe mit kleinen, in parallel verlaufenden Ketten vereinigten Zellen ohne Eigenbewegung, welche durch Jod gelb gefärbt wurden. In Gelatineröhrchen trat Bildung einer faltigen Haut auf. Agarkulturen zeigten eine geringe weiße Vegetation an der Oberfläche; auf Kartoffelscheiben war fast gar kein Wachstum zu beobachten. Der Alkohol wurde unter Essigsäurebildung oxydiert; es handelte sich um *Bacillus* oder *Bacterium acetosum*<sup>1)</sup>.

Die zweite Art war ein *Bacillus*, der kurze, schwach bewegliche Stäbchen bildete. Auf Gelatineplatten und -Röhrchen entstanden nur an der Oberfläche runde, gelbbraune Kolonien. Die Agarkulturen waren von gelber Farbe. Auf Kartoffelscheiben konnte nur eine geringe Entwicklung von braunen, schleimigen Decken beobachtet werden. Alkohol wurde zu Essigsäure oxydiert. Es war dies *Bacillus Petersii*<sup>2)</sup>.

In der Milchsäurelösung trat eine kleine *Sarcina* auf, die einen roten Farbstoff produzierte und welche Gelatine nur sehr langsam erweichte. Die Kolonien, die nur an der Oberfläche wuchsen, waren erst von rotgelber Farbe und wurden allmählich rot. Die Agarkulturen zeigten die rote Farbe am schönsten. In Milch entsteht Rotfärbung und es hat Menge<sup>3)</sup> diese *Sarcina rosea*, mit der wir es zu tun hatten, als einen Erreger von spontaner Rotfärbung der Milch beschrieben.

Der in der Harnstofflösung wuchernde Mikrobe war durch seine Eigenschaft, Harnstoff zu vergären, ausgezeichnet. Es handelte sich um ein ziemlich dickes Stäbchen ohne Eigenbewegung. In Gelatineplatten und -Röhrchen waren die graugefärbten Kolonien erst nach 8 Tagen aufgetreten. Auf Harnstoff-Gelatine und -Agar war hingegen schon nach 3 Tagen vorzügliches Wachstum zu beobachten. Auf Kartoffelscheiben kein deutliches Wachstum. Auf Harnstofflösung überimpft erzeugt der Mikrobe deutliche Ammoniakbildung. Es war dies *Bacterium ureae*<sup>4)</sup>.

1) Henneberg, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 14.

2) Peters, Bot. Ztg. Bd. XLVII. 1889. p. 405.

3) Menge, K., Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VI. p. 596. — Lindner, Die *Sarcina*-organismen der Gärungsgewerbe (Inaug.-Diss. Berlin 1888. p. 45) hat eine andere Art mit dem gleichen Namen bezeichnet.

4) Leube und Gram, Virchow's Arch. Bd. C. 1885. p. 558.

Tabelle  
Die Mikrobenflora in den Konzentrations-

	Bac. fluor. immob.				Rote Torula				Sarc. alba				Sarc. flava				Bac. ruber			
	Nach 5-täg. Steh.	Nach 4-wöch. Steh.	8- "	12- "	Nach 5-täg. Steh.	Nach 4-wöch. Steh.	8- "	12- "	Nach 5-täg. Steh.	Nach 4-wöch. Steh.	8- "	12- "	Nach 5-täg. Steh.	Nach 4-wöch. Steh.	8- "	12- "	Nach 5-täg. Steh.	Nach 4-wöch. Steh.	8- "	12- "
Glycerin	++	+	—	—	+	—	—	—	+	+	+	—	—	+	++	+	—	—	—	—
Weinsäure	++	+	—	—	+	—	—	—	—	+	+	—	—	+	++	+	+	—	—	—
Milchsäure	++	+	—	—	+	—	—	—	—	+	+	+	—	+	++	+	—	—	—	—
Kaliumacetat	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—	—	+	++	+	—	—	—	—
Bernsteinsäure	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	+	—	—	+	++	+	—	—	—	—
Aethylalkohol	+	++	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	+	++	+	—	—	—	—
Natriumformiat	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
Harnstoff	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	++	+	—	—	—	—
Glykolsäure	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
Oxymethylsulfos.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
Methylalkohol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—

Die Konzentrationsversuche mit Zdiber Wasser wurden, wie schon oben berichtet, gleichzeitig mit der Aufstellung des Hauptversuches in Gang gesetzt (6. April); die Mikrobenflora ist in der Tabelle XI dargestellt. Das Aussehen der Proben war anfangs rötlich, rotgelb bis gelblich, je nachdem der *Bacillus flavens* oder *Bacillus ruber aquatilis* vorherrschte. Nach und nach trat ein Erblassen der Farben ein, bis zuletzt die weiße Farbe in allen Flüssigkeiten hervortrat. Auch hier waren bis dahin nicht isolierte Formen aufgetreten.

In der Milchsäurelösung erschien ein kurzes kokkenartiges Stäbchen ohne Eigenbewegung. In den Gelatineröhrchen wuchs dasselbe nur an der Oberfläche und erzeugte eine Verflüssigung erst nach sehr langer Zeit. Die Agarkulturen waren besonders schön gelb gefärbt und zeigten eine perlchnurartige Auflagerung. Die Kulturen auf Kartoffelscheiben entwickelten deutlichen Geruch nach Buttersäure. Demnach war es *Bacillus margaritaceus*<sup>1)</sup>.

In derselben Lösung war das Auftreten von feinen, stark verklebten Stäbchen, kleine Ketten bildend, zu beobachten. Auf Gelatineplatten und -Röhrchen bildete dieser Mikrobe einen weißen, strahligen Belag an der Oberfläche und bewirkte schnelle Verflüssigung. Die Farbe der Kolonien auf Agar war grau. Auf Kartoffelscheiben war eine mehr ins Gelbliche spielende Wucherung aufgetreten: *Bacillus digitatus* oder *Bacillus* No. VII Pansini<sup>2)</sup>.

Auch in der Harnstofflösung war ein Stäbchen von verschiedener Größe, zu kurzen Ketten vereinigt, mit Eigenbewegung, kugelige Sporen bildend, zur Entwicklung gekommen. Es wuchs in gewöhnlicher Rohrzuckergelatine und auf Agar fast gar nicht, dagegen ausgezeichnet auf Harnstoff-Agar mit weißer Farbe an der Oberfläche. Auf Kartoffelscheiben war nur ein geringes Wachstum zu bemerken. Harnstoff wurde unter Ammoniakbildung zersetzt: *Bacillus Pasteuri* = *Urobacillus Pasteuri*<sup>3)</sup>.

Endlich war auch in der Aethylalkohollösung ein Mikrobe mit runden, kokkenartigen Zellen ohne Kettenbildung und Eigenbewegung aufgetreten, der mit Jod und Schwefelsäure nicht blau gefärbt wurde. In Gelatineröhrchen trat eine dünne, mattglänzende, fest zusammenhängende Hautbildung auf. Indem die Gelatine rasch verflüssigt wurde, sank die Haut zu Boden. Auf Agar war eine weiße, auf Kartoffelscheiben eine schmutzig-weiße Wucherung zu sehen. Oxydierung des Alkohols zu

1 Maschek, Bakteriologische Untersuchung des Leitmeritzer Trinkwassers. 1887.

2) Pansini, Virchow's Arch. Bd. CXXII. 1886. p. 443. — Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. Bd. II. 1896. p. 215.

3) Miquel, Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. Bd. II. 1896. p. 201.

**X.**

versuchen \*) (Moldauleitungswasser).

[illegible]

\* ) ++ bedeutet starkes, + schwaches, — gar kein Wachstum.

Essigsäure war nachzuweisen. Demnach konnte man diesen Bacillus mit dem *Bacillus acetigenus* oder *Bacterium acetigenum* identifizieren<sup>1)</sup>.

Die in den Hauptversuchen zuletzt erschienenen Formen, welche man als die anspruchslosesten bezeichnen mußte, und zwar *Sarcina flava*, *Torula alba* und *Micrococcus aquatilis* waren zuerst in Natriumformiat aufzufinden gewesen, das sich als Kohlenstoffquelle für die meisten anderen Formen überhaupt nicht eignete.

Bei den Versuchen mit Moldauleitungswasser war die *Sarcina flava* als die anspruchsloseste Art zuletzt erschienen, nur in den Versuchen mit Natriumformiat, Glykolsäure und Oxymethylsulfosäure war erst die *Sarcina flava* und dann erst die *Sarcina alba* aufgetreten, und es ist auch tatsächlich (vergl. Tabelle XII) das Minimum des Kohlenstoffbedarfes für diese Stoffe bei der letzteren, entgegengesetzt den Erfahrungen bei den anderen Kohlenstoffverbindungen, ein niedrigeres. Beim Zdiber Wasser erschien der *Bacillus candidus liquefaciens* in den meisten Versuchen als einer der ersten, während er auf Milchsäure erst nach 12-wöchentlichem Stehen zu isolieren war. Auch dieses Resultat findet durch die Bestimmung des Kohlenstoffminimums eine befriedigende Erklärung (Tabelle XV).

#### IV. Die Ernährungsverhältnisse einer Reihe von saprophytischen Süßwassermikroben.

### 1. Die Verhältnisse der Kohlenstoffversorgung.

### a) Das Kohlenstoffminimum.

Zur Prüfung kamen alle von mir im Laufe der Untersuchung isolierten Formen nebst folgenden Vergleichsmikroben: *Bacillus sub-*

1) Henneberg, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 14.

Zweite Abt. Bd. XV.

45

Tabelle XI.  
Die Mikrobenflora in den Konzentrationsversuchen (Zilberwasser).

Substanz	Bacillus flavens						Bacillus ruber aquatilis						Bacillus cand. liquefac.						Sarcina alba						Bacillus violaceus					
	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "		
Glycerin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Weinsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Milchsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Kaliumacetat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Bernsteinsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Aethylalkohol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Natriumformiat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Glykolsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Oxymethylsulfo.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Methylalkohol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

Substanz	Bacillus flavens						Bacillus ruber aquatilis						Bacillus cand. liquefac.						Sarcina alba						Bacillus violaceus					
	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "		
Glycerin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Weinsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Milchsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Kaliumacetat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Bernsteinsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Aethylalkohol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Natriumformiat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Glykolsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Oxymethylsulfo.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Methylalkohol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

Substanz	Bacillus flavens						Bacillus ruber aquatilis						Bacillus cand. liquefac.						Sarcina alba						Bacillus violaceus					
	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "		
Glycerin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Weinsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Milchsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Kaliumacetat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Bernsteinsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Aethylalkohol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Natriumformiat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Glykolsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Oxymethylsulfo.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Methylalkohol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

Substanz	Bacillus flavens						Bacillus ruber aquatilis						Bacillus cand. liquefac.						Sarcina alba						Bacillus violaceus					
	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "	8-täg. Steh.	4-wöch. Steh.	8- " "	12- " "	16- " "	20- " "	22- " "		
Glycerin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Weinsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Milchsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Kaliumacetat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Bernsteinsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Aethylalkohol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Natriumformiat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Glykolsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Oxymethylsulfo.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Methylalkohol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

tilis, *Bacillus mesentericus*, *Micrococcus prodigiosus*, *Aspergillus niger*, *Mucor mucedo*, *Saccharomyces cerevisiae* und *glutinis*. Zunächst wurde der Traubenzucker als Kohlenstoffquelle in Arbeit genommen. Zur Deckung des Stickstoffbedarfes wurde in sämtlichen Fällen Ammoniumphosphat dargereicht. Die zur Verwendung gelangenden Reagentien stammten meist von der Firma E. Merck in Darmstadt, und ich habe außerdem die Salze durch mehrmaliges Umkristallisieren gereinigt und vor dem Einwiegen bis zum konstanten Gewichte bei 100° getrocknet. Da man mit sehr kleinen Zahlen zu operieren hatte, habe ich auf Vorschlag des Herrn Prof. Czapek als Einheit  $\frac{1}{1000}$  mg angenommen und mit dem Namen „Mikrogramm“ =  $\mu\gamma$  bezeichnet. Der prozentischen Zusammensetzung des Eiweißmoleküls entsprechend hatte ich von dem zur Deckung des Stickstoffbedarfes dienenden Ammoniumphosphat  $\frac{1}{3}$  des absoluten Gewichtes der betreffenden Kohlenstoffquelle verwendet. 1 Mol Traubenzucker + aq. ist 198 g; 1 Mol  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  ist 132 g. Es wurde 1 Millimol Traubenzucker = 0,198 g und  $\frac{1}{2}$  Millimol Ammoniumphosphat = 0,066 g in einem Erlenmeyerkolben in 1000 ccm Wasser aufgelöst (Konzentration I). Von dieser Stammlösung wurden immer 10-fache Verdünnungen hergestellt, indem ich aus einer Bürette 10 ccm dieser Lösung abmaß und mit 100 ccm destillierten Wassers verdünnte. So wurden immer 10mal verdünntere Lösungen, die mit II, III u. s. w. bezeichnet wurden, erhalten. Von diesen Lösungen wurden je 4 ccm in Reagenzröhrchen abgemessen und sterilisiert. Natürlich mußten bei Harnstoff und den Lösungen flüchtiger Stoffe zuerst die Röhrchen sterilisiert werden; dann wurden sie mittelst einer sterilen Pipette mit den durch ein Pukallsches Filter filtrierten Lösungen gefüllt. Das Impfen dieser Lösungen mußte, um nicht Nährlösung mit dem Platindraht einzuführen, sehr vorsichtig durchgeführt werden, indem die Kultur nur mit der Spitze des Drahtes berührt und dann mit dieser die Oberfläche der Flüssigkeit eben gestreift wurde. Um die Bakterien während der Dauer der Versuche lebensfähig zu erhalten, wurden von den Stammkulturen in 14-tägigen Zwischenräumen Ueberimpfungen in je 2 frische Nährgelatineröhrchen vorgenommen. Das eine diente den Versuchszwecken, das zweite bildete eine Reserve für den Fall, daß während des öfteren Oeffnens eine unbeabsichtigte Infektion eingetreten war. Jeder einzelne Versuch wurde doppelt aufgestellt. Zur Kontrolle diente ein Röhrchen, welches eine gleich konzentrierte Lösung, jedoch ohne die betreffende Kohlenstoffverbindung enthielt. Als zweite Kontrolle wurden 4 ccm destillierten sterilisierten Wassers mit dem betreffenden Mikroben geimpft. Nur dann, wenn in diesen beiden Kontrollversuchen kein Wachstum erfolgte und das Wachstum in beiden Hauptversuchen übereinstimmende Resultate lieferte, wurde ein Resultat als gültig angenommen. Nach der Impfung wurden die Röhrchen in einem vor Infektion geschützten Raume aufbewahrt und nach einer Woche besichtigt. Die steril gebliebenen Proben wurden noch weitere 8 Tage aufgestellt gelassen und erst, wenn auch jetzt kein Wachstum eingetreten war, definitiv als steril bezeichnet.

Die einzelnen Lösungen der Traubenzucker-Versuche enthielten in je 4 ccm:

Konz.	I	792	$\mu\gamma$ Traubenzucker und	264	$\mu\gamma$ Ammoniumphosphat
„	II	79,2	„	„	26,4
„	III	7,92	„	„	2,64
„	IV	0,792	„	„	0,264
			u. s. f.		

Glycerin: (Dichte mittelst Pyknometer = 1,228), 2 Millimol Glycerin = 0,184 g, und  $\frac{1}{3}$  Millimol Ammoniumphosphat = 0,066 g in 100 ccm Wasser = Konz. I. Je 4 ccm enthielten in:

Konz.	I	7360	$\mu\gamma$ Glycerin und	2640	$\mu\gamma$ Ammoniumphosphat
"	II	736	"	264	"
"	III	73,6	"	26,4	"

u. s. f.

Weinsäure: 1 Millimol (des Anions) = 0,149 g, 2,5 Millimol Ammoniumphosphat = 0,0528 g, in 100 ccm Wasser aufgelöst, mit KOH neutralisiert. Je 4 ccm:

bei Konz.	I	5960	$\mu\gamma$ Weinsäure und	2112	$\mu\gamma$ Ammoniumphosphat
"	II	596	"	211,2	"
"	III	59,6	"	21,12	"

u. s. w.

Milchsäure (spez. Gewicht mit Pyknometer = 1,1641): 1 Millimol (des Anions) = 0,089 g und  $\frac{1}{4}$  Millimol Ammoniumphosphat = 0,033 g, in 100 ccm Wasser gelöst und mit KOH neutralisiert. Je 4 ccm:

bei Konz.	I	3560	$\mu\gamma$ Milchsäure und	1330	$\mu\gamma$ Ammoniumphosphat
"	II	356	"	132	"
"	III	35,6	"	13,2	"

u. s. w.

Kaliumacetat: 2 Millimol (des Anions) = 0,118 g und  $\frac{1}{4}$  Millimol Ammoniumphosphat = 0,033 g in 100 ccm destillierten Wassers aufgelöst und mit Essigsäure neutralisiert. Je 4 ccm:

bei Konz.	I	4720	$\mu\gamma$ Kaliumacetat und	1320	$\mu\gamma$ Ammoniumphosphat
"	II	472	"	132	"
"	III	47,2	"	13,2	"

Bernsteinsäure: 1 Millimol (des Anions) = 0,116 g und  $\frac{1}{3}$  Millimol Ammoniumphosphat = 0,044 g in 100 ccm destillierten Wassers gelöst und mit KOH neutralisiert. Je 4 ccm:

bei Konz.	I	4640	$\mu\gamma$ Bernsteinsäure und	1760	$\mu\gamma$ Ammoniumphosphat
"	II	464	"	176	"
"	III	46,4	"	17,6	"

Aethylalkohol (spez. Gewicht mit Pyknometer = 0,80428): 2 Centimol = 0,92 g und 2,5 Millimol Ammoniumphosphat = 0,33 g in 100 ccm Wasser gelöst. Je 4 ccm:

bei Konz.	I	36800	$\mu\gamma$ Aethylalkohol und	13200	$\mu\gamma$ Ammoniumphosphat
"	II	3680	"	1320	"
"	III	368	"	132	"

Natriumformiat: 4 Millimol (des Anions) = 0,180 g und  $\frac{1}{2}$  Millimol Ammoniumphosphat = 0,066 g in 100 ccm Wasser gelöst und mit KOH neutralisiert. Je 4 ccm:

bei Konz.	I	7200	$\mu\gamma$ Natriumformiat und	2640	$\mu\gamma$ Ammoniumphosphat
"	II	720	"	264	"
"	III	72	"	26,4	"

Harnstoff: 1 Millimol = 0,060 g und  $\frac{1}{10}$  Millimol Ammoniumphosphat = 0,022 g in 100 ccm destillierten Wassers aufgelöst. In je 4 ccm:

bei Konz.	I	2400	$\mu\gamma$ Harnstoff und	880	$\mu\gamma$ Ammoniumphosphat
"	II	240	"	88	"

u. s. w.

Glykolsäure: 2 Millimol (des Anions) = 0,150 g und  $\frac{1}{3}$  Millimol Ammoniumphosphat = 0,044 g in 100 ccm destillierten Wassers gelöst und mit KOH neutralisiert in 4 ccm:

bei Konz.	I	6000	$\mu\gamma$ Glykolsäure und	1760	$\mu\gamma$ Ammoniumphosphat
"	II	600	"	176	"

u. s. w.

Methylalkohol (spez. Gewicht mit Pyknometer 0,8038): 4 Millimol = 0,128 g und  $\frac{1}{3}$  Millimol Ammoniumphosphat = 0,044 g, in 100 ccm Wasser gelöst, in 4 ccm:

bei Konz.	I	5120	$\mu\gamma$ Methylalkohol und	1760	$\mu\gamma$ Ammoniumphosphat
"	II	512	"	176	"

u. s. w.

Oxymethylsulfosäure: 1 Millimol (des Anions) = 0,111 g und  $\frac{1}{3}$  Millimol Ammoniumphosphat = 0,044 g, in 100 ccm Wasser gelöst und mit KOH neutralisiert. Je 4 ccm:

bei Konz.	I	4440	$\mu\gamma$ Oxymethylsulfosäure und	1760	$\mu\gamma$ Ammoniumphosphat
"	II	444	"	176	"

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Bakteriologischer Befund bei einigen Milchproben von abnormaler Beschaffenheit.

[Aus dem landwirtsch.-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich.]

Von R. Burri und M. Düggele.

Die folgenden Mitteilungen sollen einen kleinen Beitrag bilden zum Kapitel der sogenannten bakteriellen Milchfehler. Es handelt sich um Fälle von abnormaler Beschaffenheit der Milch, die an verschiedenen Orten und zu verschiedenen Zeiten zur Beobachtung gelangt sind und dem Laboratorium behufs näherer Untersuchung zugewiesen wurden.

### I. Fall. Nach Limburgerkäse stinkende Milch.

Die Probe wurde uns im Januar 1900 durch Herrn Prof. Dr. E. Zschokke, Direktor der zürcherischen Tierarzneischule, zugestellt. Es handelte sich um eine auch äußerlich nicht normale Milch, vielmehr um ein offenbar pathologisches Sekret von gelblicher Farbe. Gelber Galt lag indessen, wie ein besonderer Färbungsversuch ergab, nicht vor. Das Auffallendste an der Milch war ein intensiver, unangenehmer Geruch nach älterem Limburgerkäse. Wenn man eine geringe Menge dieser Milch, die selbst keine Neigung zur Gerinnung zeigte, auf sterilisierte Milch übertrug, so trat in dieser bei 30° in 1—2 Tagen Gerinnung ein. Dabei ging aber der charakteristische Geruch vollständig verloren. Die bei seiner Entstehung beteiligten Mikroorganismen waren in der Originalprobe schon abgestorben oder sie konnten sich unter den obwaltenden Versuchsbedingungen nicht weiter entwickeln.

Nach unseren bisherigen Kenntnissen über die Ursachen des Auftretens von Käsegestank in Milch und Milchprodukten müssen namentlich anaerobe Bakterien vom Typus des *Paraplectrum foetidum* Weigm. in Betracht gezogen werden. Auf Grund dieser Voraussetzung und weil in der nicht mehr ganz frischen Milchprobe ein ziemlich bunt zusammengesetztes Bakteriengemisch zu erwarten war, haben wir einen Teil der Probe pasteurisiert und mit diesem von vegetativen Entwicklungsstadien befreiten Materiale Platten- und hohe Schichtkulturen hergestellt. Das Ergebnis lautete dahin, daß entwicklungsfähige Sporen in der betreffenden Milchprobe nicht in nennenswerter Menge vorhanden waren, und daß der gesuchte Gestankerreger auf dem eingeschlagenen Wege jedenfalls nicht erhalten werden konnte.

Gleichzeitig mit nicht pasteurisiertem Material hergestellte Agar- und Gelatineplatten, von denen die ersteren bei 30°, die letzteren bei Zimmertemperatur standen, ließen nach einiger Zeit mehrere Kolonietypen erkennen, die nun auf ihr Vermögen, die eigentümlichen Geruchstoffe zu erzeugen, untersucht werden mußten. Von den Agarplatten abgeimpfte Kolonien zeigten in keinem Falle das entsprechende Verhalten, während von den vier auf den Gelatineplatten vertretenen Typen einer offenbar den gesuchten Organismus enthielt. Es handelte sich um sehr kleine punktförmige Bakterienansammlungen, die anscheinend auf dem Grunde eines Verflüssigungstrichters saßen. Eine nähere Prüfung ergab, daß die Verflüssigung in vielen Fällen nur eine scheinbare, in



anderen allerdings eine ganz deutliche war. Diese Kolonien enthielten unbewegliche Stäbchen von  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$   $\mu$  Breite und einer wechselnden Länge von 1—6  $\mu$ . Vorherrschend waren übrigens auf den Gelatineplatten nicht die soeben geschilderten, sondern andere Kolonien, die aus zooglöenartig zu dichtgefügt Gruppen vereinigten Milchsäurebakterien (*Bact. Güntheri* Lehm. et Neum.) bestanden. Weder diese noch zwei weitere auf den Platten in beträchtlicher Zahl vorhandene, hier aber nicht weiter interessierende Arten riefen bei Ueberimpfung auf Milch das Auftreten des charakteristischen Geruchs hervor, während bei der ersterwähnten Art eine solche Wirkung bei jeder Impfung festzustellen war. Der in den Milchkulturen am besten bei 30°, weniger deutlich bei 37° sich entwickelnde Duft hatte eine unverkennbare Ähnlichkeit mit demjenigen der Originalprobe, stand aber bezüglich Intensität dieser nach. Ein Versuch, durch gleichzeitige Verimpfung der Käsegeruchbakterien und der aus der Originalmilch isolierten Milchsäurebakterien eine Steigerung der Geruchsintensität zu erzielen, blieb ohne Erfolg. Die Anwesenheit der Milchsäurebakterien hatte eher in beeinträchtigendem Sinne gewirkt. Ähnliche Versuche von kombinierter Impfung unter Verwendung von *Bac. megatherium*, *Bac. vulgatus* und *Bact. aërogenes* führten in gleicher Weise nicht zu einer stärkeren Entwicklung des charakteristischen Geruchs.

Der in Rede stehende Spaltpilz hat seit seiner Isolierung (Januar 1900) während nun bald 6 Jahren bei stetiger Ueberimpfung auf die gewöhnlichen Fleischwasserpeptonnährböden in 2—3-monatlichen Pausen in seinem Verhalten eine bemerkenswerte Konstanz gezeigt. Dies gilt sowohl von den morphologischen und kulturellen Eigenschaften, als auch von dem spezifischen Vermögen, in Milch einen Geruch nach Limburgerkäse hervorzurufen.

Die in der folgenden Beschreibung enthaltenen Angaben beziehen sich auf eine in letzter Zeit vorgenommene Ueberprüfung der seinerzeit unmittelbar nach der Isolierung des Organismus gemachten Beobachtungen und stimmen mit den letzteren in allen wesentlichen Punkten überein.

#### A. Mikroskopischer Befund.

Aus 2 Tage alten Gelatineplattenkolonien: Unbewegliche Stäbchen, nicht mehr als  $\frac{1}{2}$   $\mu$  breit; Länge 1,5—3  $\mu$ , ausnahmsweise 4  $\mu$ .

Aus 6 Tage alten Molkengelatineplattenkolonien: Mittlere Dimensionen der Stäbchen  $2 \times \frac{1}{2}$   $\mu$ . Nicht selten etwas gekrümmte und an den Enden verjüngte Zellen.

Aus 2 Tage altem Agarstrich: Unbewegliche, 2—3  $\mu$  lange und  $\frac{1}{2}$   $\mu$  oder wenig mehr breite Stäbchen.

Aus 2 Tage alter Bouillonkultur: Ähnliches Bild wie aus Agarstrich; Länge von 2—4  $\mu$  schwankend, Breite  $\frac{1}{2}$   $\mu$  oder etwas mehr.

#### B. Kulturelles Verhalten.

Gelatineplatten bei 20—22° C. Nach 4 Tagen bilden die Oberflächenkolonien auf günstig besetzten Platten kreisrunde, im durchfallenden Lichte stark bläulich irisierende Scheibchen, die im auffallenden Licht schwach gelblich erscheinen. Die größten haben 1 mm Durchmesser; keine Verflüssigung. Tiefenkolonien haben  $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{4}$  mm Durchmesser und sind von kugeligem Gestalt im Gegensatz zu den seinerzeit bei der Isolierung des Organismus auf den Originalplatten gesehenen seesternartigen Gebilden. Nach 6 Tagen liegen die Oberflächenkolonien als gelbe Scheibchen in klaren oder wenig trüben Flüssigkeitsmulden. Die Platten geringerer Verdünnung waren schon nach 3 Tagen verflüssigt.

Agarplatten bei 30—32° C. Auffallend schlechtes Wachstum in Anbetracht der ziemlich üppigen Entwicklung auf Schrägagar. Meistens war das Agar in den



Petri-Schalen schon stark eingetrocknet, bevor sich überhaupt sichtbare Kolonien entwickelt hatten. (In Uebereinstimmung mit diesem Verhalten steht die Tatsache, daß seinerzeit bei Verarbeitung der Originalmilchprobe unser Stäbchen nur aus Gelatine-, nicht aber aus Agarplatten gewonnen werden konnte.)

Molkengelatinestich bei 20—22° C. Nach 2 Tagen Wachstum als schwacher Streifen bis zum Grunde des Einstiches, nach unten immer dürrtiger werdend. Oben keine Ausbreitung. Nach 6 Tagen an der Oberfläche muldenförmige, 1 cm breite und  $\frac{1}{2}$  cm tiefe Verflüssigungszone, die im tiefsten Punkt in den nicht verflüssigten Teil der Kultur übergeht. Der letztere ist in der Entwicklung nicht wesentlich fortgeschritten.

Milchzuckeragarstich bei 30—32° C. Nach 2 Tagen an der Oberfläche schmutziggelber Fleck, während das Stichwachstum höchstens 1 cm in die Tiefe reicht. Nach 6 Tagen nimmt die gelbe Auflagerung fast die ganze Oberfläche ein. Das Stichwachstum ist ziemlich kräftig, bricht aber in  $\frac{3}{4}$  cm Tiefe plötzlich ab.

Schüttelkulturen bei 30—32° C. Diese für das Studium des Verhaltens der Bakterien zum Luftsauerstoff besonders gut sich eignende Methode wurde zunächst mit Milchzuckeragar ausgeführt und hat dabei ein Resultat ergeben, das zum Vergleich mit den Resultaten bei Verwendung anderer Nährböden, speziell von gewöhnlichem und Dextroseagar, aufforderte. Die folgende Zusammenstellung zeigt den hierbei zutage getretenen eigenartigen Unterschied zwischen gewöhnlichem und Dextroseagar einerseits und Milchzuckeragar andererseits.

Nach 2 Tagen	{	Gew. Agar: Wachstum nur an der Oberfläche und in der obersten 1 mm mächtigen Nährbodenschicht.
		Dextroseagar: Ebenso.
		Milchzuckeragar: Wachstum fehlt an der Oberfläche, mit Ausnahme eines kleinen Flecks. Dafür befindet sich 1 cm unter der Oberfläche eine dünne, mikroaërophile Kolonieschicht.

Nach 6 Tagen haben sich die zwei ersten Kulturen wenig verändert, während der ursprüngliche Fleck auf der Oberfläche des Milchzuckeragars an Ausdehnung gewonnen hat<sup>1)</sup>.

Agarstich bei 30—32° C. Nach 2 Tagen kräftiger, schmutzig-gelber, glänzender, 2—3  $\mu$  breiten Belag. Zentraler Teil lebhafter gefärbt als die Randzone. Nach 6 Tagen ist der Belag noch mehr ausgebreitet, aber in der Farbe etwas abgeblaßt.

Kartoffel bei 30—32° C. Nach 2 Tagen spärliche, glänzende, gelbe Tröpfchen auf den Spuren der Impfstiche. Nach 6 Tagen ist die Kultur immer noch dürrtig und zeigt wachsgelbe Färbung.

Bouillon bei 30—32° C. Nach 2 Tagen ist kräftige Trübung vorhanden, auffallenderweise nur im obersten Drittel der Flüssigkeitssäule. Nach 6 Tagen sind die Unterschiede immer noch deutlich: Oberstes Viertel mäßig trübe, zweites Viertel schwach trübe, nach unten durch eine schmale Zone stärkere Trübung gegen die fast klare untere Hälfte der Bouillonssäule abgrenzend. In anderen Fällen ist von Anfang an gleichmäßige Trübung der ganzen Bouillonssäule beobachtet worden. Diese Tatsache steht offenbar wie das Verhalten der Schüttelkulturen mit einer der vorliegenden Bakterienart eigenartigen, aber jedenfalls labilen Empfindlichkeit gegenüber dem freien Sauerstoff im Zusammenhang.

1) Anmerkung. Um Zufälligkeiten auszuschließen, sind Wiederholungen der Schüttelkulturen mit den drei genannten Nährböden vorgenommen worden. Agar und Dextroseagar lieferten wiederum das eindeutige Bild des streng aëroben Typus, während Milchzuckeragar ein wechselndes, doch in keinem Fall mit dem der letzteren Kulturen übereinstimmendes Verhalten zeigte. Auffallend war vor allem die sich anfänglich zeigende Tendenz, auf der Oberfläche des Agars das Wachstum zu verweigern. Nachträglich trat dieses allerdings in einer Reihe von Kulturen dennoch auf, aber wie sich erkennen ließ, von einer tiefer, zwischen Glaswand und Agarcylinder liegenden Entwicklungszone ausgehend. In der Mehrzahl der Fälle hatte sich in Milchzuckeragar etwa 1 cm unter der Oberfläche eine dünne, kaum 1 mm hohe mikroaërophile Kolonieschicht entwickelt und in dem Gläschen, wo diese am schönsten ausgebildet war, ist jegliches Wachstum auf der Oberfläche ausgeblieben. Bei späteren Wiederholungen solcher Versuche hat sich gezeigt, daß das typische Bild des mikroaërophilen Typus auch bei Verwendung von Dextroseagar erhalten werden kann, und daß unter Umständen in Milchzuckeragar nicht nur an der Oberfläche, sondern auch im Innern des Nährbodencylinders jedes Wachstum unterbleibt. Eine Konstanz der für die Schüttelkultur geschilderten Erscheinungen war demnach nicht zu verzeichnen. Wir werden diese Verhältnisse weiter verfolgen und gedenken, bei anderer Gelegenheit auf sie zurückzukommen.

Milch. Sterilisierte Milch wurde mehrfach in gleicher Weise geimpft und die Kulturen bei 20, 30 und 38 ° C aufgestellt.

Nach 2 Tagen	{	20 °: Anscheinend unverändert, deutlich, aber schwach nach Limburgerkäse stinkend.
		30 °: Anscheinend unverändert, ziemlich stark nach Limburgerkäse stinkend.
		38 °: Rahmschicht gelblich, Geruch nicht definierbar, jedenfalls nicht deutlich nach Limburgerkäse.
Nach 6 Tagen	{	20 °: Anscheinend unverändert, schwach unangenehm riechend.
		30 °: Rahm deutlich gelb; ziemlich starker Geruch nach Limburgerkäse.
		38 °: Rahm deutlich gelb; Geruch nicht deutlich nach Limburgerkäse.

10 Tage lang bei 30 ° gestandene Kulturen haben keine Säurezunahme nachweisen lassen.

Alte, Wochen und Monate bei Zimmertemperatur gehaltene Kulturen stinken stark, sind braungelb und zeigen das Kasein feinflockig ausgeschieden. Weiterhin scheint eine Auflösung des Gerinnsels einzutreten.

Unter den in Milchkulturen gebildeten Stoffwechselprodukten ist Schwefelwasserstoff zufolge schneller und kräftiger Schwärzung von Bleipapier leicht nachzuweisen.

## II. Fall. Milch mit „Hundsgeruch“.

Im Februar 1903 sind uns durch Herrn C. Pelichet, Direktor der wadtländischen Molkereischule in Moudon, zwei Milchproben zugesandt worden, welche von Kühen stammten, die mit der Knötchenseuche behaftet waren und die während längerer Zeit eine der chemischen Zusammensetzung nach abnormale Milch lieferten. In der Gärprobe machten sich nach Angabe des Einsenders diese Milchen durch Entwicklung eines unangenehmen, stinkenden Geruches bemerkbar und, soweit diese Milch in der Käseerei verarbeitet wurde, teilte sich derselbe auch den betreffenden Käsen mit. Der Genuß solcher Käse soll bei einigen Personen sogar Unwohlsein hervorgerufen haben. Leider kamen die fraglichen Milchproben zu einer Zeit in unsere Hände, als der Fehler im Verschwinden begriffen war, und ferner hatten der verhältnismäßig weite Transport und andere Umstände es mit sich gebracht, daß die Proben bei ihrer Ankunft im Laboratorium mindestens 24 Stunden alt waren. Die Aussicht, durch eine bakteriologische Untersuchung die Ursache des abnormalen Verhaltens dieser Milch aufzudecken oder wenigstens einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten des üblen Geruches und gewissen in der Milch vorhandenen Mikroorganismen nachzuweisen, mußte also recht gering erscheinen. Sollten überhaupt derartige, mit entsprechenden Eigenschaften ausgerüstete Mikroorganismen sich bei der Versendung der Milchprobe noch in dieser befunden haben, so konnten sie inzwischen durch die schnell wachsenden Milchsäurebakterien längst überwuchert worden sein.

Bei ihrer Ankunft waren die Proben, die von zwei Kühen stammten, noch nicht geronnen, die eine verriet aber einen ausgeprägt säuerlichen, nicht unangenehmen Geruch, der bei der anderen fehlte. Dafür war hier unverkennbar ein eigentümlicher Duft wahrzunehmen, der uns an die Ausdünstungen von Hunden erinnerte; andere Personen glaubten einen Geruch nach Tierhäuten, wieder andere einen Stiergeruch zu erkennen. Es muß zugegeben werden, daß allen diesen Ansichten offenbar eine gemeinsame Empfindung zu Grunde lag, und da bekanntlich in solchen Fragen das subjektive Gefühl eine große Rolle spielt, soll über das mehr oder weniger Zutreffende der einzelnen Ansichten nicht weiter

diskutiert, sondern der betreffende Geruch in der Folge kurz als „Hundsgeruch“ bezeichnet werden.

Die sofortige Anstellung der Gärprobe konnte, wie vermutet wurde, die Untersuchung wenig fördern, da infolge des vorgeschrittenen Alters die Proben schon zu stark mit Milchsäurebakterien angereichert waren. Nach 24-stündigem Aufenthalt bei 38—30° war bei beiden Proben ein unreiner Geruch festzustellen, doch in geringerer Intensität als bei der einen Probe sofort nach der Ankunft. Auch die bakteriologische Untersuchung der Gärprobenmilch hat nichts ergeben, was die Resultate der Untersuchung der frischen Milch ergänzen könnte, weshalb in den folgenden Ausführungen nur die letzteren berücksichtigt werden.

Zum Zwecke einer Orientierung über die Bakterienflora der eingesandten Milch sind möglichst bald nach der Ankunft Plattenkulturen mit gewöhnlichem Agar und Molkengelatine hergestellt werden. Die ersteren wurden bei 30°, die letzteren bei Zimmertemperatur gehalten. Nach beiden Kulturarten sind übereinstimmende Ergebnisse erhalten worden, nämlich in weitaus überwiegender Zahl waren vertreten die Kolonien des *Bact. Güntheri*, sodann in zweiter Linie eine Kolonienart, die sogleich Gegenstand weiterer Erörterungen sein wird und endlich stark zurücktretend bzw. nur einen untergeordneten Bestandteil der Pilzflora bildend, Vertreter der *Coli*- und *Aërogenes*-Gruppe.

Jene an zweiter Stelle erwähnte Bakterienart, die den beiden Milchproben gemeinschaftlich war, fiel uns sofort auf durch ihr Verhalten bei der Untersuchung im hängenden Tropfen. Sie ließ sich nämlich im Gegensatz zu den meisten Bakterienarten mit Hilfe der Nadel im Wasser nicht zu einer trüben Aufschwemmung zerteilen, sondern ergab bei dem entsprechenden Bemühen nur Bruchstücke, die wie Sand im Wassertropfen lagen und unter dem Mikroskop sich aus dichtgelagerten Stäbchen von ungefähr der Gestalt des *Bact. coli* zusammengesetzt erwiesen. Zwischen diesen teils rundlichen, teils eckigen Bruchstücken der Kolonie fanden sich oft nur ganz vereinzelt aus dem Verbande losgerissene Stäbchen. Uebrigens war auch das Plattenbild der betreffenden Kolonien auf Agar wie auf Gelatine an *Bact. coli* oder *aërogenes* erinnernd, und bei der Häufigkeit des Vorkommens der genannten Organismen als Erreger von Milchfehlern verschiedener Art hatten wir anfänglich die zahlreichen grauen Scheibchen auf unseren Milchplatten ohne weiteres als Vertreter jener Gruppe angesehen. Durch den eigentümlichen Aufbau der Kolonien, den wir mit der Bezeichnung „Bröckeltypus“<sup>1)</sup> charakterisieren wollen, aufmerksam gemacht, suchten wir nach weiteren Anhaltspunkten über die verwandtschaftliche Stellung des Organismus zur *Coli*-Gruppe, und dabei stellte sich heraus, daß die Ähnlichkeit eine rein äußerliche war, indem sein Sauerstoffbedürfnis sich als sehr ausgeprägt erwies und das Gasbildungsvermögen in zuckerhaltigen Nährböden vollständig fehlte.

1) Die Eigentümlichkeit, daß gewisse Kolonien sich in Wasser nicht zerreiben lassen und nur eine sandige Aufschwemmung geben, ist übrigens ziemlich verbreitet und im allgemeinen durchaus nicht als konstantes Merkmal zu betrachten. Eine und dieselbe Spezies kann unter bestimmten Bedingungen den „Bröckeltypus“ zeigen, unter anderen Bedingungen schleimig weich sein und sozusagen von selbst bei Mischung mit Wasser in die einzelnen Zellelemente zerfallen. Nicht selten ist der „Bröckeltypus“ bei *Bact. Güntheri* und noch häufiger bei langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien zu treffen. Auch bei der oben erwähnten Art war der „Bröckeltypus“ nicht bei jeder Kolonie in gleicher Vollkommenheit ausgebildet, wie wir uns durch Prüfung einer großen Anzahl von Kolonien überzeugen konnten.

Das vorläufige Resultat der Untersuchung wäre also dahin zusammenzufassen, daß in den fraglichen Milchproben ein uns bisher nicht bekanntes, in der Form dem *Bact. coli* ähnliches, aber im physiologischen Verhalten von diesem ganz verschiedenes Stäbchen in bedeutender Menge nachzuweisen war. Als normal konnte also die Zusammensetzung der Bakterienflora dieser Milch nicht bezeichnet werden, und es fragte sich nun weiter, ob der abnormale Bestandteil der Flora, d. h. das erwähnte Stäbchen mit dem abnormalen Geruch der Milch in irgendwelcher Beziehung stand. Auf eine solche Beziehung deutete der Umstand, daß in der Probe, welche den „Hundsgeruch“ noch deutlich gezeigt hatte, das *Coli*-ähnliche Stäbchen einen größeren Prozentsatz der Gesamtkeimzahl ausmachte, als in jener, welche einen solchen Geruch nicht mehr erkennen ließ, weil die Milchsäurebakterien vorzeitig die Oberhand gewonnen hatten. Wie uns Direktor Pelichet nachträglich berichtete, war das der ersten Probe entsprechende Sekret während des ganzen Krankheitsverlaufes der Tiere stärker abnormal gewesen, als das der anderen Probe.

Das Naheliegendste war nun, das erwähnte Bakterium auf sterilisierte Milch zu verimpfen, um zu sehen, ob es darin jene Geruchsstoffe produzieren könne, welche der Originalmilch ihr Gepräge verliehen. Wider Erwarten sind aber alle in dieser Richtung angestellten Versuche ohne Erfolg verlaufen. Von der Erwägung ausgehend, daß infolge der zur Sterilisierung notwendigen starken Erhitzung der Milch diese als Nährboden untauglich geworden sei, oder daß wenigstens jene Bestandteile, welche das Material für die spezifisch riechenden Geruchsstoffe zu liefern hatten, unvorteilhaft verändert sein konnten, haben wir pasteurisierte Milch mit dem Bakterium geimpft, doch der unangenehme Geruch trat nicht auf. Dasselbe negative Ergebnis erhielten wir mit einer sterilisierten Milch, die einen Zusatz von 0,5 Proz. Pepton erhalten hatte als Ersatz für die bei der Sterilisation ungünstig beeinflussten Eiweißsubstanzen. Endlich wurde frisch gemolkene, in sterile Gefäße aufgefangene Milch mit der Reinkultur in solcher Menge versetzt, daß unser Bakterium von Anfang in der Zahl entschieden das Uebergewicht hatte. Doch war auch in diesem Fall das Auftreten irgend eines unangenehmen Geruches in der geimpften Milch nicht zu bemerken. Nach allen diesen Versuchen schien es also unmöglich, auf irgend eine Weise in Milch durch die Reinkultur des verdächtigen Bakteriums den für die Originalmilchproben charakteristischen Zustand hervorzurufen. Man könnte geneigt sein, auf Grund dieser Erfahrungen kurzerhand den Schluß zu ziehen, daß das fragliche Bakterium mit dem „Hundsgeruch“ der Milch überhaupt nichts zu tun hatte und daß seine Anwesenheit in den Proben eine ganz zufällige war. Wir sind aber zu einer gegenteiligen Ansicht gelangt, als wir neben den schon angeführten Eigenschaften unseres Bakteriums auch sein Verhalten auf verschiedenen Nährböden prüften.

So wenig dieser Organismus bei seinem Wachstum in Milch das Vermögen, durch den Geruch auffallende Stoffe hervorzubringen, verrät, so deutlich zeigt er dieses, wenn er auf anderen gebräuchlichen Nährböden, speziell auf Fleischwassergelatine, auf Fleischwasseragar oder auf gewöhnlicher Peptonbouillon gezogen wird. In diesen Fällen macht sich in den Kulturen nach verhältnismäßig kurzer Zeit ein spezifischer Geruch bemerkbar, der eine unverkennbare Aehnlichkeit mit dem „Hundsgeruch“ jener Milch hat, die als Ausgangspunkt der Untersuchung diente.

So viel wir zu beurteilen vermögen, scheint eine Komponente dieses Geruches in Trimethylamin zu bestehen.

Das fragliche Bakterium besitzt demnach doch die Fähigkeit, als Stoffwechselprodukte unter bestimmten Entwicklungsbedingungen in Reinkultur charakteristische Riechstoffe auszuschcheiden, Riechstoffe, wie sie die Milch enthielt, aus welcher es isoliert worden ist. Warum aber diese Riechstoffe gerade nur in jener zur Einsendung gelangten und nicht in jeder beliebigen Milch gebildet werden, entzieht sich unserer Beurteilung. Sehr wahrscheinlich hat hier die unter dem Einfluß der Krankheit der Kühe veränderte chemische Beschaffenheit jener Milch den Ausschlag gegeben, eine Veränderung, die vielleicht durch das Mittel der gebräuchlichen gröberen chemischen Analyse nicht einmal erkannt worden wäre. Wie dem auch sei, wir stehen nicht an, in dem erwähnten Spaltpilz, dessen Beschreibung wir folgen lassen, die unmittelbare Ursache des höchst unangenehmen Geruches der fraglichen Milchprobe zu erblicken.

#### A. Mikroskopischer Befund.

Die Angaben beziehen sich auf lebende Präparate im hängenden Tropfen.

Aus 3 Tage altem Gelatinestich: Kleinere und dichtgefügte Stäbchenkonglomerate, auch vereinzelte Stäbchen. Die letzteren messen annähernd  $1,5-2,5 \mu \times 1 \mu$ . Bewegung ist bei vom Verband losgelösten Stäbchen nicht zu erkennen, hingegen zeigen kleinere Konglomerate ein eigentümliches Hin- und Herrücken, das den Eindruck einer aktiven Bewegung hervorruft.

Aus 1 Tag alter Kartoffelkultur: Ähnliches Bild, doch finden sich zwischen den Koloniebröckeln zahlreiche Einzelstäbchen  $1,5-2 \mu \times \frac{3}{4} \mu$ . Auch hier ist das merkwürdige Hin- und Herrücken ganzer Zellgruppen zu beobachten, ohne daß Beweglichkeit bei Einzelstäbchen zu erkennen wäre.

Aus 1 Tag altem Milchzuckeragarstich: Ähnliches Bild. Bröckel- und Einzelstäbchen durcheinander liegend. Letztere messen  $1,5-2 \mu \times \frac{3}{4} \mu$ .

Geißeln konnten nicht nachgewiesen werden, und was die eine aktive Bewegung vortäuschende Ortsveränderung ganzer Bakteriengruppen betrifft, so waren dabei wahrscheinlich Strömungen im Spiel, die durch Austausch von Stoffen zwischen Wasser einerseits und der die Bakterien verkittenden Substanz andererseits hervorgerufen worden sind.

#### B. Kulturelles Verhalten.

Gelatineplatten bei 20°: Nach 2 Tagen annähernd kreisrunde, glänzende, grauweiße Scheibchen von 1–1,5 mm Durchmesser. Neben diesem Typus von oberflächlichen Kolonien ist in noch größerer Zahl ein zweiter vorhanden, der durch kugelige, den Tiefenkolonien ähnliche Kolonien gebildet wird, sich von diesem aber durch etwas größeren Durchmesser unterscheidet. Bei schwacher mikroskopischer Vergrößerung lassen alle Arten von Kolonien eine eigenartige bröckelige Struktur erkennen, die sich speziell bei den kugeligen Formen am Rande durch eine warzige, blumenkohlartige Beschaffenheit kennzeichnet. Nach 8 Tagen sind die scheibchenförmigen Oberflächenkolonien 3–5 mm breit, dabei meist schön kreisrund, während die kugeligen Oberflächenkolonien ohne den Flächentypus angenommen zu haben, bis 1 mm Durchmesser erreichen.

Agarplatten bei 30°: Äußerlich ähnlich den Gelatineplatten, doch fehlt die Bröckelstruktur oder tritt weniger deutlich hervor. Tiefenkolonien sind glattrandig, nicht blumenkohlartig.

Gelatinestich bei 20°: Nach 3 Tagen an der Oberfläche unregelmäßig berandete, Coli-ähnliche, aber etwas dickere, auf der Fläche schwach hügelige Auflagerung, welche nach 10 Tagen einen Durchmesser von ca 1 cm erreicht. Wachstum im Stichkanal anfänglich nur im obersten Drittel, später auch mehr in die Tiefe, doch sehr spärlich.

Milchzuckeragarstich bei 30°: Nach 5 Tagen an der Oberfläche kräftiger Belag, bis an die Glaswand reichend. Wachstum im Kanal nur in der Nähe der Oberfläche, 3 mm von dieser entfernt, plötzlich abbrechend.

Agarstrich:  $\left\{ \begin{array}{l} \text{bei } 20^{\circ}: \text{ Nach 1 Tag spärlicher Belag; nach 3 Tagen glänzender,} \\ \text{kräftiger Streifen.} \\ \text{bei } 30^{\circ}: \text{ Nach 1 Tag weißlicher, 1—2 mm breiter, glänzender kräftiger} \\ \text{Belag.} \\ \text{bei } 38^{\circ}: \text{ Nach 1 Tag fast gar kein Wachstum; nach 3 Tagen besser,} \\ \text{eine Reihe wenig zusammenhängender Kolonien zeigend.} \end{array} \right.$

Dextroseagar-Schüttelkultur bei  $30^{\circ}$ : Oben kräftige, die ganze Oberfläche einnehmende Ausbreitung. Wachstumszone kaum  $\frac{1}{2}$  mm in die Tiefe reichend.

Kartoffel bei  $30^{\circ}$ : Nach 1 Tag in charakteristischer Weise ein dunkelgrauer Fleck mit verwaschenem Rand an der Stelle, wo der eigentliche Bakterienbelag auftritt und einige Millimeter darüber hinaus. Bakterienbelag kräftig, matt oder mattglänzend, Coli-ähnlich, mit einem Stich ins Gelbliche. Nach 2—3 Tagen überzieht die dunkle Färbung das ganze Kartoffelstück, der Ton ist jetzt eher blasser, bläulich-schiefergrau.

Bouillon bei  $30^{\circ}$ : Nach 2 Tagen schwache, nach 4 Tagen stärkere Trübung, noch fast kein Bodensatz. An der Oberfläche ist Neigung zu Hautbildung vorhanden, die meist auf einen ringförmigen Ansatz an der Glaswand beschränkt bleibt. Nach 8 Tagen ist die Trübung ziemlich kräftig und am Grunde des Gefäßes hat sich eine weißliche, ziemlich mächtige Bakterienansammlung gebildet. Die Kulturen zeigen einen durchdringenden, wenn auch nicht starken Geruch, der an die Ausdünstungen von Hunden erinnert und auch etwas Gemeinschaftliches mit dem auf der Ausscheidung von Trimethylamin beruhenden Geruch alter Agarkulturen des *Bact. aërogenes* hat. Der Geruch macht sich nicht nur in gewöhnlicher, sondern auch in 2-proz. Dextrosebouillon bemerkbar. Beide Nährböden nehmen unter der Einwirkung des Bakteriums bei längerer Aufbewahrung bei  $30^{\circ}$  stark alkalische Reaktion (mit Phenolphthalein geprüft) an. Starke Reaktion auf  $H_2S$ .

Milch bei  $30^{\circ}$ : Nach mehreren Tagen, sogar nach 3 Wochen noch scheinbar unverändert. Ein besonderer Geruch ist nicht wahrzunehmen, zum mindesten ist derselbe nicht unangenehm. Die Reaktion bleibt unverändert. 4 Tage alte Kulturen reagieren neutral, in 10 Tage alten wurde eine unbedeutende Säurezunahme ( $1,4 \text{ ccm } \frac{1}{10}$  Laugenverbrauch für 20 ccm Kultur nach Abzug der für Neutralisation der nicht geimpften Kontrollmilch gebrauchten Laugenmenge) festgestellt.

### III. Fall. Milch mit bitterem Geschmack.

Durch Herrn Dozent A. Peter, Direktor der bernischen Molkereischule Rütli, wurde uns am 3. Februar 1905 eine fehlerhafte Mischmilch von ca. 10 Kühen überreicht, welche, in die Gärprobe gestellt, das typische Bild von sogenannter käsiger Milch bot, wobei sich gleichzeitig deutlich bitterer Geschmack konstatieren ließ. Trotzdem der Lieferant dieser Milch musterhafte Stallordnung hielt und die Euter der Kühe sich bei eingehender Inspektion als gesund erwiesen, zeigte das Wirtschaftsprodukt innerhalb einer Beobachtungszeit von 3 Jahren doch nur selten die erwünschte gallertartige Gerinnung in der Gärprobe (bei  $40^{\circ}$ ). Die Milch erwies sich beinahe bei jeder Prüfung auf irgend eine Weise fehlerhaft. Es lag nahe anzunehmen, daß der sich oft bemerkbar machende bittere Geschmack der Milch von der reichlichen Sesamfütterung, wie sie im betreffenden Stalle verabreicht wurde, herrühre. Die von uns ausgeführten Versuche lassen aber als Ursache des bitteren Geschmacks einen Mikroorganismus erkennen, durch dessen Lebenstätigkeit die unerwünschten Veränderungen in der Milch hervorgerufen werden. Herr Direktor Peter molk 2mal im Sommer, als die Milch sich in der Gärprobe als stark käsig erwies, unter Beobachtung der erforderlichen Kautelen, von den Kühen direkt in sterile Gläser mit Wattepfropfen. In der Gärprobe wurde die Milch sämtlicher Kühe mehr oder weniger stark käsig und zwar in ungefähr der gleichen Zeit wie die Mischmilch aus der Brente, während sonst das Inkubationsstadium von sorgfältig gewonnener Milch sich bedeutend verlängert zeigt.

Als die fehlerhafte Milch in unserem Laboratorium zur Untersuchung gelangte, war sie schon 36 Stunden alt, aber noch vollständig unver-

ändert, und soweit wir es zu beurteilen vermochten, auch von normalem Geruch und Geschmack.

Nachdem die nötigen Kulturen auf Molkengelatineplatten und Milchzuckeragar hohe Schicht angelegt worden waren, verteilten wir die Originalmilch auf zwei sterilisierte Gläschen, von denen das eine bei Zimmertemperatur (15—18°) das andere bei 37° aufgestellt wurde. Nach 3 Tagen zeigten beide Milchproben das Bild von käsiger Ausscheidung des Kaseins, wobei unter der intakten Rahmdecke ungefähr die Hälfte des Gläscheninhaltes von klarem Serum, der Rest von feinflockig geronnenen, stark kontrahiertem Kasein erfüllt war. Aus der weißen Käsemasse traten beim Schütteln vereinzelte Gasblasen aus. Der Rahm war schwach sauer und bitter, während sowohl Kasein wie Serum sich im Geschmack als deutlich sauer und stark bitter erwiesen. Im hängenden Tröpfchen waren neben den vorherrschenden Formen vom Typus des *Bact. Güntheri* L. et N. auch Kokken und namentlich unbewegliche Kurzstäbchen zu konstatieren.

Die Untersuchung der 3 Tage bei 20° gestandenen Molkengelatineplatten ergab, daß die Mikroflora der fehlerhaften Milch weit vorwiegend aus 1—3  $\mu$  langen und 0,7  $\mu$  breiten, unbeweglichen, oft etwas gekrümmten Stäbchen zusammengesetzt war. Diese Stäbchen bildeten auf der Molkengelatineplatte Kolonien von ungefähr 1 mm Durchmesser, lagen in einer Verflüssigungsmulde und zeichneten sich durch die Bildung eines rostroten Farbstoffes aus. Neben dieser vorherrschenden Art fanden sich noch kleine, glänzende, graue Kolonien, die Stäbchen von der Größe der Kartoffelbacillen enthielten, sowie auch weiße verflüssigende Kokkenkolonien. Die 3 Tage bei 30° aufbewahrte hohe Schicht von Milchzuckeragar enthielt nur *Bact. Güntheri* sowie typische Kokken.

Um festzustellen, welche der isolierten Bakterienarten die Ursache des Bitterwerdens der Milch sei, wurden dieselben auf sterilisierte Milch (bei 30°) sowie auf frisch gemolkene, zuverlässig gute Kontrollmilch impft (je ein Gläschen bei 20, 30 und 37°). Nach 10 Tagen brachte die rostrote Kolonien bildende Bakterienart die sterilisierte Milch zu gallertiger Gerinnung und bei der Geschmacksprüfung am 15. Tage nach der Impfung erwies sich dieselbe als eigentümlich salzig und sehr bitter, so daß sich bei ihrer Prüfung sofort Brechreiz einstellte. Die anderen Mikroorganismen, mit Ausnahme des *Bact. Güntheri*, das die Milch normal schmeckend dicklegte, veränderten dieselbe weder hinsichtlich der Konsistenz noch im Geschmack. Die mit den reingezüchteten Bakterienarten versetzte und bei 20, 30 und 37° aufgestellte frische Kontrollmilch verhielt sich der sterilisierten Milch gegenüber etwas abweichend. Je nach der einwirkenden Temperatur trat in 20—46 Stunden gallertige Gerinnung der Milch ein, wobei mehr oder weniger große Quantitäten Serum ausgeschieden wurden. Aber auch hier zeigten sich bei der Geschmacksprüfung nur diejenigen Milchen als bitter schmeckend, die mit der rostrote Kolonien bildenden Bakterienart geimpft worden waren.

Aus diesen Versuchen glauben wir den berechtigten Schluß ziehen zu dürfen, daß die isolierte rostrote, die Gelatine verflüssigende Stäbchenart die Ursache des Bitterwerdens der eingesandten fehlerhaften Milchprobe sei, was um so mehr berechtigt erscheint, als die späterhin noch mehrmals angelegten Milchkulturen dieses Mikroorganismus stets stark bitter schmeckten.



Da uns aus der Literatur kein Fall bekannt ist, wo der bittere Geschmack von Milch auf eine ähnliche oder identische Bakterienart zurückgeführt werden konnte, so wollen wir hier die ausführliche Beschreibung dieses die Milch unangenehm verändernden Stäbchens folgen lassen. Ein Vorversuch hatte uns mit der interessanten Tatsache bekannt gemacht, daß der in Frage stehende, in der Milch spezifische Veränderungen hervorrufoende Schädling bei 20° im allgemeinen besser wächst als bei 30°.

**Mikroskopisches Aussehen:** 1—3  $\mu$  lange und 0,6—0,7  $\mu$  breite, vollständig unbewegliche Stäbchen, die meist einzeln, nicht selten aber auch zu zweien und in kleinen Konglomeraten vorkommen. Sie sind gewöhnlich schwach gekrümmt und brechen das Licht relativ schwach.

**Färbbarkeit:** Mit den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen leicht färbbar, nicht aber nach Gram.

**Ansprüche an Nährböden und Sauerstoffzutritt:** Mit Ausnahme von Kartoffel auf den gewöhnlichen Nährböden gut gedeihend. Wie das Wachstum im Stich und in der Schüttelkultur zeigt, ist der Organismus sehr sauerstoffbedürftig.

**Fleischwasserpeptongelatineplatten bei 20°.** Nach 24 Stunden erscheinen die Kolonien als kreisrunde homogene Tröpfchen von 10—20  $\mu$  Durchmesser. Nach Verfluß von 3 Tagen sind die Oberflächenkolonien bei einem mittleren Durchmesser von  $\frac{1}{3}$  mm kreisrund, ganzrandig, ohne innere Strukturdifferenzen, von hellbrauner Farbe und liegen in einer Verflüssigungsmulde, die den doppelten Durchmesser der Kolonie besitzt. Die Art ist also gelatineverflüssigend. Die Tiefenkolonien unterscheiden sich von den Oberflächenkolonien durch ihre Kleinheit ( $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{3}$  mm) und die fehlende Peptonisierungszone. Mit der fortschreitenden Zeit vergrößert sich die Kolonie und mit ihr auch die Verflüssigungsdelle, so daß nach 14 Tagen die  $\frac{3}{4}$  cm Durchmesser aufweisenden gelbbraunen Oberflächenkolonien mit ihrem unregelmäßigen Rande in die flüssig gewordene Gelatine ausstrahlen und die Tiefenkolonien nun auch in einer kleinen Vertiefung des Nährbodens sitzen.

**Molkengelatineplatten bei 20°.** Das Wachstum der Art ist ähnlich demjenigen auf den Platten mit gewöhnlicher Gelatine, doch bedeutend rascher und verbunden mit der Bildung eines intensiveren Farbstoffes, so daß schon die 4 Tage alten Kolonien als rostrot zu bezeichnen sind. Nach 14 Tagen zeigen die ca. 4 mm großen rostroten mehr oder weniger kreisrunden Oberflächenkolonien einen unregelmäßigen Rand mit kleinen, unscharf abgegrenzten Hörnern und Zacken. In die 1 cm Durchmesser haltende ziemlich klare Verflüssigungsmulde strahlen zahlreiche Bakterienhäufchen aus und verleihen der Kolonie ein wolkiges Aussehen. Die Tiefenkolonien erreichen in diesem Alter kaum die halben Dimensionen der Oberflächenkolonien, sind aber ebenfalls rostrot gefärbt und an der Peripherie unscharf abgegrenzt.

**Fleischwasserpeptongelatinestich bei 20°.** Während in den unteren Zonen des Stiches nur schwaches, aber doch deutlich wahrnehmbares Wachstum eintritt, bemerken wir oben schon am 4. Tage, nach dem Impfen eine kleine Verflüssigungsdelle, die mit bräunlicher bis rostroter Bakterienmasse erfüllt ist und in der Folge trichterförmig in die Tiefe vordringt. Die verflüssigte Gelatine ist mißfarbig grau und am Grunde der Verflüssigungsmulde liegt eine rostrote Bakterienmasse.

**Molkengelatinestich bei 20°.** Gegenüber dem Verhalten auf gewöhnlicher Gelatine ist auch hier rascheres und intensiveres Wachstum zu konstatieren neben ausgeprägter Neigung zur Bildung des rostroten Farbstoffes.

**Gewöhnliche Agarplatten.** Bei 30° findet kein Wachstum statt, wohl aber bei 20°. Bei dieser letzteren Temperatur aufbewahrt, erscheinen auf den Platten nach 3 Tagen die Oberflächenkolonien als gelbe, mehr oder weniger kreisrunde Tröpfchen von  $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{5}$  mm Durchmesser, während die gelben linsenförmigen Tiefenkolonien kaum  $\frac{1}{10}$  mm Größe besitzen. Die Oberflächenkolonien bleiben klein und besitzen nach 14 Tagen nur 3 mm Durchmesser, die Tiefenkolonien breiten sich, wenn sie zwischen Agarschicht und Glaswand gelangen, sehr rasch aus und bilden eine grauliche, opalisierende Schicht.

**Agarstrich:** Sowohl bei 20° wie bei 30° findet kräftiges Wachstum statt als glänzender, rostroter, am Rande schwach lappiger Belag. Das Kondenswasser ist mit Bakterienmasse von gleicher Farbe erfüllt. Bei 37° wächst der Organismus entweder gar nicht oder nur sehr kümmerlich und zeigt im letzteren Falle stark involvierte Formen.

Auffallend ist das verschiedene Verhalten des Stäbchens bei der Kultur auf Agar gegenüber der Temperatur, je nachdem Platten oder Striche angelegt werden. Bei den ersteren tritt nur Wachstum bei 20°, bei den letzteren dagegen auch bei 30° ein. Es hat den Anschein, als ob das Aufbringen einer größeren Anzahl von Keimen das Fortkommen derselben unter ungünstigen äußeren Bedingungen erleichtern würde.



Milchzuckeragar-Schüttelkultur bei 20° und 30°. Nur im obersten Millimeter findet Wachstum als rostrote Punkte statt, an der Oberfläche aber gedeiht der Organismus recht üppig als saftiger, rostroter Belag. Weder Gas- noch Säurebildung tritt ein.

Milchzuckeragarstich bei 20° und 30°. Der Mikroorganismus erweist sich als obligat aërob, da er nur im obersten Centimeter des Stiches gedeiht, aber an der Oberfläche einen kräftigen, rostroten, glänzenden Belag bildet.

Bouillon: Nach 3 Tagen sind die oberen zwei Dritteile der Flüssigkeit stark graulich getrübt, doch schreitet die Trübung rasch bis auf den Grund des Gläschens vorwärts. Es wird aber auch in den 14 Tage alten Kulturen keine Decke und kein Bodensatz gebildet.

Kartoffel: Kein Wachstum.

Es schien uns von Interesse, das Verhalten der besprochenen Bakterienart gegenüber sterilisierter Milch etwas eingehender zu prüfen und dabei namentlich die Produktion von Säure in den Bereich unserer Untersuchungen einzubeziehen. Bei 37° vermehrte sich der Organismus in der Milch offenbar nicht, denn nach 14 Tagen war dieselbe nicht nur in Geschmack und Geruch unverändert, sondern wies den gleichen Säuregrad auf wie ein gleichzeitig aufgestelltes, nicht geimpftes Kontrollgläschen. Zu 30° gestellt, wurde der Rahm schwach rostrot verfärbt und gleichzeitig ließ sich ein ganz schwacher Käsegeruch konstatieren. Die Flüssigkeit gerann zwar nach 14 Tagen noch nicht, schmeckte aber stark bitter und eigentümlich salzig und zeigte eine deutliche Säurezunahme, so daß zur Neutralisation von 20 ccm Milchkultur 3,0 ccm einer  $\frac{1}{10}$  Normal-Natronlauge notwendig waren, abzüglich 3,3 ccm als Säuregrad der verwendeten Milch. Die bei 20° aufgestellte Serie von Milchkulturen zeigte bis zum Abschlusse des Versuches (12 Tage) keine makroskopische Veränderung der Milch, aber doch eine leicht nachzuweisende Vermehrung des Säuregrades bei gleichzeitig auftretendem bitteren und eigentümlich salzigen Geschmack. Nach 2, 4, 6, 8, 10 resp. 12 Tagen betrug die Menge der zur Neutralisation notwendigen  $\frac{1}{10}$  Normal-Natronlauge nach Abzug von 3,3 ccm als Säuregrad der verwendeten Milch: 3,2, 5,3, 5,7, 3,4, 5,9 und 7,4 ccm.

Auffallend ist das Zurückgehen des Säuregrades am 8. Versuchstage, doch läßt sich vielleicht diese Erscheinung folgendermaßen erklären: Die Produktion der Milchsäure schreitet mit zunehmendem Alter zwar vorwärts, allein ein Teil derselben wird an das Kasein der Milch gebunden und kommt bei der Bestimmung des Säuregehaltes nicht mehr in Betracht.

Wenn wir die Beschreibung dieser bittere Milch erzeugenden Stäbchenart mit derjenigen vergleichen, welche im nämlichen Produkt einen eigentümlichen, an Limburger erinnernden Geruch erzeugt, so gelangen wir zu dem Schlusse, daß wir zwei einander sehr nahe stehende Mikroorganismen vor uns haben, die sich morphologisch gar nicht oder nur unbedeutend unterscheiden, die aber in Milch spezifische, leicht auseinanderzuhaltende Umsetzungen bewirken und deshalb nicht als identisch erklärt werden können<sup>1)</sup>.

#### IV. Fall. Milch mit ausgeprägtem Geschmack und Geruch nach Glarner Schabzieger.

Herr Prof. Dr. E. Zschokke stellte uns eine Milch zu Untersuchungszwecken zur Verfügung, die infolge eines eigentümlichen, sehr an Glarner Schabzieger erinnernden Geschmacks und Geruches nicht genießbar war<sup>2)</sup>. Die Kuh, welche solche Milch gab, befand sich

1) Leider konnten wir infolge Eingehens der Kulturen der vorliegenden Stäbchenart keine Erhebungen darüber anstellen, ob sie auch sich zum freien Sauerstoff der Luft so eigenartig verhält, wie wir dies bei der Limburger-Geruch produzierenden Art feststellten.

2) Der Glarner Schabzieger, eine Spezialität des Kantons Glarus und der angrenzenden Gebiete, wird gewonnen, indem durch gewöhnliches Aufrahmverfahren erhaltene Magermilch infolge Zusatz von „Sauer“ ihres Käsestoffes, des zurückgebliebenen Fettes, sowie der eigentlichen Ziegerstoffe (Albumine) beraubt wird. Der Rohzieger wird in Holzkasten eingestampft und macht dort eine Gärung durch. Durch Zusatz von Kochsalz und pulverisiertem Schabziegerklee (*Trigonella coerulea* Ser.) zu dem gemahlenden Zieger erhält man ein Produkt, das sich durch spezifischen Geschmack und Geruch auszeichnet.

am Ende der Laktationsperiode und lieferte nach Aussage des Besitzers aus drei Zitzen das mit genanntem Fehler behaftete Sekret. Die eingetroffene Probe erwies sich sowohl im Aussehen wie im Geschmack und Geruch normal und ließ auch nach dem Aufkochen eines Teiles derselben nichts von dem ihr zur Last gelegten Fehler wahrnehmen, obwohl sich derselbe besonders beim Kochen stark bemerkbar machen sollte. Die Prüfung auf das Vorhandensein von Galtstreptokokken ergab ein negatives Resultat.

Bei der Verarbeitung der frisch eingetroffenen Milch auf Molken-gelatineplatten erwies sich dieselbe als arm an Mikroorganismen. Neben den vorherrschenden Kolonien vom Typus des *Bacterium lactis aërogenes* Escherich waren noch feststellbar: Nicht identifizierbare Kurzstäbchen, Kokken und Hefen. Die mit Milchzuckeragar angelegte hohe Schicht war zufolge Gas- und Säurebildung zerrissen und getrübt. Die meisten Kolonien gehörten zu *Bacterium Güntheri* L. et N., doch waren auch Kurzstäbchenkolonien und *Bact. lactis aërogenes* in größerer Zahl nachzuweisen.

Der Rest der Milchprobe wurde in sterilierte Gläschen abgefüllt und zu 20°, 30° und 37° gestellt. Nach 1 und 2 Tagen waren noch keine Veränderungen zu konstatieren, aber am 3. Tage zeigten die bei den drei verschiedenen Temperaturen aufbewahrten Milchen, besonders aber die zu 30° gestellte, deutlichen Geruch und Geschmack nach Schabzieger, obwohl die Milch makroskopisch unverändert war.

Die bei 30° den Fehler so intensiv zeigende Probe erwies sich bei der Prüfung mit Molkengelatineplatten und Milchzuckeragar hohe Schicht als beinahe ausschließlich bewohnt von Stäbchen vom *Aërogenes*-Typus.

Nach 5 Tagen war die zu 20° gestellte Milch unverändert, wenn-gleich stark nach Schabzieger riechend, während bei 30° und 37° gleichzeitig das Kasein gallertig ausgeschieden war und reichlich Gasblasen emporstiegen. Die Prüfung mittels Platten und hoher Schicht zeigte auch hier, daß Kolonien vom *Aërogenes*-Typus weit vorherrschend waren. Ein ähnliches Resultat lieferte die Untersuchung nach 9 Tagen. Nach Verfluß von 11 Tagen war auch die bei 20° aufbewahrte Milch geronnen.

Da die bisherigen Untersuchungsergebnisse darauf hinwiesen, daß das Stäbchen, welches dem *Bact. lactis aërogenes* nahe stand, sehr wahrscheinlich der Erreger des Schabziegergeschmackes und -geruches in der Milch war, so leiteten wir folgenden Versuch ein, um volle Gewißheit über die Ursache des Milchfehlers zu erhalten. Eine zuverlässig gute Konsummilch wurde zu 20 ccm in sterilisierte Gläschen abgefüllt und gelangte partienweise roh, pasteurisiert (15 Minuten bei 70°) und sterilisiert zur Verwendung. Außer den nötigen Kontrollen wurden Gläschen mit folgenden Kulturen geimpft und je eines zu 20°, 30° und 37° gestellt:

- 1) Rohe Konsummilch, mit Zusatz einer großen Oese von 15 Stunden bei 30° gestandener Milchkultur des *Aërogenes*-ähnlichen Stäbchens.
- 2) Rohe Konsummilch, geimpft mit einer großen Oese der 9 Tage bei 37° gestandenen, deutlichen Schabziegergeruch zeigenden Originalmilch.
- 3) Pasteurisierte Konsummilch, versetzt mit großer Oese einer 15 Stunden bei 30° gestandenen Milchkultur des *Aërogenes*-ähnlichen Stäbchens.

- 4) Sterilisierte Konsummilch mit gleichem Zusatz.

Nach 24 resp. 48 Stunden waren in den aufgestellten Milchproben

schon zum Teil die unerwünschten aromatischen Stoffe mehr oder weniger gut wahrnehmbar, doch wollen wir hier, um Raum zu sparen, darauf verzichten, die in unseren Notizen festgelegten Beobachtungen anzuführen und beschränken uns darauf, das Aussehen der Milchgläschen nach Verfluß von 6 Tagen bei den verschiedenen Temperaturen zu charakterisieren.

Die Kontrollmilch war bei allen 3 Temperaturen gleichmäßig gallertig geronnen, von rein saurem Geschmack und schwach säuerlich riechend.

Zu 1. Rohe Konsummilch + Milchkultur des Aërogenes-ähnlichen Stäbchens.

Bei 20°. Die Milch war gallertig geronnen, mit starker Ausscheidung von klarem Serum. Geruch: Intensiv schabziegerähnlich. Geschmack: Eigentümlich salzig, sauer und schabziegerartig.

Bei 30°. Die Milch war ähnlich geronnen wie bei 20°, wies aber noch starke Gasbildung auf. Geruch: An Rahmkäschen erinnernd. Geschmack: Intensiv sauer und schabziegerartig.

Bei 37°. In Aussehen, Geruch und Geschmack wie bei 30°.

Zu 2) Rohe Konsummilch + 9 Tage bei 37° gestandene Originalmilch.

Bei 20°. Gallertig geronnene Milch, mit wenig ausgeprägtem Schabziegergeruch, dagegen war sie stark sauer, mit unangenehmem Schabziegergeschmack.

Bei 30 und 37° entsprechend wie bei 20°.

Zu 3) Pasteurisierte Konsummilch + Milchkultur des Aërogenes ähnlichen Stäbchens.

Bei 20°. Die Milch war unverändert, mit widerwärtigem Hundegeruch, sauer und nach Schabzieger schmeckend.

Bei 30 und 37°. Das Kasein war gallertig ausgefällt, schwacher, aber deutlicher Schabziegergeruch und -geschmack.

Zu 4) Sterilisierte Konsummilch + Milchkultur des Aërogenes-ähnlichen Stäbchens.

Bei 20°. Die Milch war noch flüssig, besaß aber schwachen Schabziegergeruch und -geschmack.

Bei 30°. Milch intakt, Geruch normal, schmeckt schwach schabziegerähnlich.

Bei 37°. Milch feinflockig geronnen, Geruch und Geschmack normal.

Das Auftreten der unerwünschten Geschmacks- und Geruchsstoffe war im allgemeinen ein so intensives, daß es auch von dritten Personen, die nichts von dem Milchfehler wußten, sofort festgestellt werden konnte. Da die anderen aus der Originalmilch mit Schabziegergeschmack und -geruch isolierten Bakterienarten in der Milch keine entsprechenden Veränderungen hervorriefen und auch die Aërogenes nahestehende Art in ihrer spezifischen Tätigkeit nicht förderten, so dürfen wir den berechtigten Schluß ziehen, daß dieses dem *Bact. lactis aërogenes* ähnliche Stäbchen die Ursache des in Frage stehenden Milchfehlers war.

Obwohl dieser Mikroorganismus dem *Bact. lactis aërogenes* Escherich<sup>1)</sup> zum mindesten sehr nahe steht oder gar mit ihm identisch ist, so weicht er von demselben doch biologisch durch die Produktion eigentümlicher Geschmacks- und Geruchsstoffe und die Zusammensetzung des gebildeten Gases ab, welche Umstände es rechtfertigen mögen, die ausführliche Beschreibung dieses Milchschrädlings hier folgen zu lassen.

Mikroskopisches Bild: 0,9 bis 2,5  $\mu$  langes und 0,9 bis 1  $\mu$  breites, an den Enden abgerundetes, vollständig unbewegliches Stäbchen. In älteren Kulturen sind die

1) Lehmann und Neumann (Bakteriologische Diagnostik. 3. Aufl. München 1904) stellen dasselbe zu *Bact. acidilactici* Hueppe.

Zellen meist von körniger Struktur und erinnern zufolge ihrer geringen Länge sehr an Kokken. Die Stäbchen sind meist einzeln, seltener zu zweien und berühren sich im hängenden Tröpfchen nie, sondern sind stets durch kleine Zwischenräume (verquollene Zellmembran) voneinander getrennt.

**Färbbarkeit:** Mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen leicht färbbar, nicht aber nach Gram.

**Ansprüche an Nährböden und Sauerstoffzutritt:** Auf den gebräuchlichen Nährböden gut wachsend und sowohl bei vollem Sauerstoffzutritt, wie auch bei dessen gänzlichem Abschluß gedeihend.

**Fleischwasserpeptongelatineplatten bei 20°.** Schon nach 24 Stunden sind die Kolonien als graue, kreisrunde Tröpfchen von  $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{10}$  mm Durchmesser sichtbar. In kurzer Zeit wachsen die Oberflächenkolonien zu dicken, mehr oder weniger kreisrunden, glänzenden, weißen Auflagerungen heran und bilden an Trimethylamin erinnernde Geruchsstoffe. Die Tiefenkolonien wölben sich halbkugelig über die Gelatine empor. Die Kolonien sind deutlich schleimig, doch nicht Gelatine verflüssigend.

**Molkengelatineplatten bei 20°.** Wachstum wie auf gewöhnlicher Gelatine, doch wird in den Oberflächenkolonien ein hellbrauner Farbstoff gebildet.

**Fleischwasserpeptongelatinestich bei 20°.** Gleichmäßig gutes Wachstum im ganzen Stich mit erst nierenförmiger, später kreisrunder, graulicher, glänzender und schleimiger Ausbreitung an der Oberfläche. Ein zu 30° gestelltes geimpftes Gelatinegläschen erstarrte beim Einstellen in kaltes Wasser auch nach 22 Tagen wieder. Die Art produziert offenbar kein peptonisierendes Enzym.

**Molkengelatine-Stich bei 20°.** Gegenüber dem Verhalten auf gewöhnlicher Gelatine ist intensivere Schleimproduktion zu konstatieren, sowie das Auftreten einzelner Glasblasen.

**Gewöhnliche Agarplatten bei 30°.** Schon nach 24 Stunden erscheinen die Oberflächenkolonien als graue, mehr oder weniger kreisrunde, stark glänzende Auflagerungen von 2—4 mm Durchmesser und schwach gelapptem, unregelmäßig ausgefranstem Rande. Die Tiefenkolonien sind linsenförmig, feinkörnig. Der deutlich wahrnehmbare Geruch der Platten erinnert sehr an Mäuseexkremente.

**Agarstrich bei 30 und 37°.** Grauweiße, glänzende, schleimige und schwach irisierende Auflagerung.

**Milchzuckeragar-Schüttelkultur bei 30°.** Die frisch aus der Milch isolierten Stämme produzierten reichlich Gas und bildeten im mit Traubenzuckerbouillon beschickten Gärkölbchen ein Gasgemenge, bei dessen Zusammensetzung sich der Wasserstoff zum Kohlendioxyd verhielt wie 7:3<sup>1)</sup>. Allein schon nach einem dreiwöchigen Aufenthalt auf Agarstrich hatten drei von den vier untersuchten Stämmen das Gasbildungsvermögen eingebüßt, obwohl sie ihre sonstigen spezifischen Eigenschaften beibehalten hatten und nur der vierte Stamm bildete bei der Prüfung noch Gas von der oben angeführten Zusammensetzung.

**Milchzuckeragarstich bei 30°.** Gleichmäßiges Wachstum im Stich mit oberflächlicher, grauer, glänzender Decke. Vereinzelte Gasblasen.

**Gewöhnliche Bouillon bei 30°.** Schon nach 16 Stunden grauliche Trübung der Flüssigkeit mit später folgender Ringbildung an der Oberfläche.

**Kartoffel bei 30°.** Nach 40 Stunden wächst die Art als mattglänzender, höckeriger, grauweißer Belag, der die Kartoffel schmutzig verfärbte. Nach 4 Tagen ist die Auflagerung gelbweiß, saftig glänzend und weist einige Gasblasen auf. Starker Trimethylamin Geruch ist wahrnehmbar.

**Milch. Bei 30°.** Nach 4 Tagen ist die Flüssigkeit makroskopisch noch unverändert und völlig geruchlos, zeigt aber reichlich Gasblasen unter der Rahmdecke. Später gerinnt sie gallertig bei schwacher Serumabscheidung und undeutlichem Schabzeigergeruch.

Bei 37° gerinnt die Milch schon nach 4 Tagen gallertig bei normalem Geruch.

In einer Serie von Milchkulturen zu 20 ccm, die bei 37° aufgestellt waren, wurde nach 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9 Tagen die Menge der produzierten Säuren bestimmt und nach Abzug der für die Neutralisation der verwendeten Milch nötigen Menge Lauge folgende Zahlen, ausgedrückt in ccm  $\frac{1}{10}$  Normal-Natronlauge, gefunden: 4,8, 6,0, 5,8, 4,9, 4,9, 3,8, 2,8, 3,5 und 4,6.

Zur Erklärung des teilweisen Zurückgehens des Säuregrades erinnern wir hier an das anlässlich der Besprechung der gleichen Erscheinung bei der bitteren Milch Gesagte.

Zürich, im November 1905.

1) Nach den der Litteratur entnommenen Angaben und unseren eigenen Erfahrungen verhält sich in dem vom typischen *Bact. lactis aërogenes* gebildeten Gas der Wasserstoff zum Kohlendioxyd annähernd wie 1:1. In der Gaszusammensetzung und in der Bildung spezifischer Geruchs- und Geschmacksstoffe verhält sich also die vorliegende Art abweichend vom Typus *Bact. lactis aërogenes*.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Lebensweise der Milben der Familie der Tyroglyphinae in Futter- und Nahrungsmitteln.

Von Dr. A. Maurizio,

I. Assistenten d. agrik.-chem. Anstalt u. Privatdozenten am Polytechnikum in Zürich.  
(Schluß.)

Zur Vervollständigung der Charakteristik der Lebensweise der Tyroglyphinae müssen endlich die derzeitigen Studien über die an lebenden Pflanzen angetroffenen Milben Erwähnung finden. Die Blumenzwiebelmilbe *Tyroglyphus echinopus* Fumouze et Robin wurde zwar von R. Bos<sup>1)</sup> in Millionen von Exemplaren an ringelkranken Hyacinthen gefunden, doch sah er sie niemals gesunde Zwiebeln beziehen. Die späteren Arbeiten von Tryon<sup>2)</sup> über *Tarsonemus ananas* und *Tyroglyphus ananas* und von E. Roze<sup>3)</sup> über *Tyroglyphus feculae*, welche Art in Gesellschaft des *Saccharomyces croci* und der *Rhizoctonia* eine Erkrankung der Safranzwiebeln verursachen soll, bedürfen wohl in allen Teilen einer Nachprüfung.

In jüngster Zeit beschäftigten sich O. Appel und C. Börner mit der Zerstörung der Kartoffeln durch Milben<sup>4)</sup>. Sie führen die ältere Literatur über Kartoffeln bewohnende Milben an. Die Verff. betonen in ihrer bilderreichen Arbeit, daß auch für andere Kulturpflanzen das Auftreten von Milben als Zerstörer lebender Pflanzenteile eine umstrittene Frage ist. Für ihre weitere Behauptung, daß in neuerer Zeit die Fälle sich mehren, in denen Milben als primäre Krankheitserreger der Pflanzen nachgewiesen worden sind, erbringen sie gar keine Beweise. Tatsächlich ist denn auch in der Beziehung nichts nachgewiesen worden und die Verff. selbst zeigen, daß Milben der Familie der Tyroglyphinae an verletzten Stellen in die Kartoffeln eindringen. Der Nachweis „der primären Natur des Milbenangriffs“ durch Uebertragung der Milben auf Kartoffeln, der sich auf Versuche an halbierten oder mit Löchern versehene Kartoffeln beschränkt, ist ganz verfehlt, da niemand daran zweifelt, daß bei solchen günstigen Gelegenheiten auch ohne künstliche Aussaat, die Milben „primär“ sich eindringen werden, sofern solche in der Nähe überhaupt vorhanden sind. Die von den beiden Forschern in großen Mengen von Exemplaren gefundene Art ist *Rhizoglyphus echinopus* (Fumouze et Robin).

### Widerstandsfähigkeit der Tyroglyphinae gegen Gifte. Vertilgung der Milben.

Reinlichkeit, Lüftung, rascher Verbrauch milbenverseuchten Materials sind im stande, die Milbenkalamität in landwirtschaftlichen Gebäuden zu verhindern. Die Tatsachen lehren jedoch, daß man trotzdem vor die Aufgabe gestellt werden kann, einmal eingeknistete Milben vertilgen

1) Ritzema-Bos, Tierische Schädlinge und Nützlinge. Berlin 1890. p. 665.

2) Refer. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 739.

3) Compt. rend. acad. d. sc. T. CXXV. 1897. p. 730.

4) Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstw. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. IV. 1905. p. 443, 446 u. f.

zu müssen. Auch im Hinblick auf die mannigfaltigen Lebensbedingungen, unter denen die Tierchen gedeihen, ist es von Interesse, ihre Widerstandsfähigkeit gegen giftige Stoffe zu prüfen. In der einschlägigen Literatur wird behauptet, daß die Milben fast gar nicht „umzubringen“ sind. Wie am Schlusse erwähnt wird, sind solche Angaben mit Vorsicht aufzunehmen.

In den Versuchen wurden die Milben in reichlich sich entwickelnden, Tausende von Exemplaren besitzenden Kulturen der Wirkung giftiger Stoffe ausgesetzt. Die Gläser hatten 500—525 ccm Inhalt und besaßen ebenso große Mengen des Nahrungsmittels wie die übrigen Kulturen. Die betreffenden Stoffe wirkten kürzere oder längere Zeit hindurch, ihre Menge wurde auf 1000 ccm berechnet. Die Kosten der pro 100 ccm Inhalt anzuwendenden Menge wurden beigelegt. Durch Einfetten, Paraffinieren ist für guten Verschluss gesorgt worden. Die Lüftung wurde nicht immer nach Verlauf der gleichen Zeit vorgenommen, richtete sich vielmehr nach dem Eintreffen einer merklichen Wirkung. Die Versuche sind ausschließlich zu dem Zwecke ausgeführt worden, um diejenigen Minimalmengen zu ermitteln, welche nicht nur die erwachsenen Tiere, sondern auch ihre Brut zu töten vermögen; der sonstige Einfluß der Gifte ist außer acht gelassen worden. Es war eine längere Beobachtung der Kolonien notwendig. Wenn 2—3 Wochen nach der Behandlung junge Tiere nicht auftraten, so blieb auch später die Vermehrung meist aus. Die Beobachtung zeigte hierbei, daß die Menge, welche die erwachsenen Milben tötet, nicht notwendig auch ihre Eier und Puppen vertilgt u. s. f. Auskunft über alle diese Verhältnisse ergibt die stetige Prüfung der Kulturen mit der Lupe. Die Kontrolle war vollständig gleich derjenigen in den übrigen Kolonien üblichen.

**Kohlensäure.** Das aus reinstem Material gewonnene Gas wurde in  $\text{NaHCO}_3$  und 2 weitere Flaschen mit Wasser gewaschen und in eine 6 l haltende Flasche aufgefangen. Die Flasche war durch Papierstreifen in halbe und ganze Liter abgeteilt. Auf ihrem Boden befand sich eine dünne Schicht Vaselineöl, um die  $\text{CO}_2$ -Absorption durch Wasser zu verhindern. Die Verwendung geschah unter den bekannten Vorsichtsmaßnahmen. Die gleiche Vorrichtung diente auch für die aus  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  und aus Schwefelschnitten entwickelte schwefelige Säure.

1) Mischung von 1 l  $\text{CO}_2$  + 5 l Luft = 16,6 Proz.  $\text{CO}_2$ . Das Gas wurde durch die hintereinander in zweckentsprechender Weise geschaltene Kulturen geleitet. Es ragten in die Kulturgläser je 2 Röhren, von denen die eine kurz, die andere aber das Futtermittel fast erreichte. Es gingen am 24. Mai 1904 4 l hindurch, ohne irgend welche Schädigung der Milben. Am 30. Mai wurden die Kulturen gelüftet.

2)  $1\frac{1}{2}$  l  $\text{CO}_2$  + 5 l Luft = 25 Proz.  $\text{CO}_2$ . Im Laufe von  $\frac{3}{4}$  Stunden gingen am 24. Mai 1904 4 l durch die Kulturen. *Tyroglyphus* und *Glycyphagus* wurden stark beeinflusst, viele Tiere waren betäubt oder tot, andere bewegten sich sehr langsam. *Tarsonemus* litt am wenigsten, nur wenige Tiere dieser Species waren bewegungslos. Nach 24 Stunden war ca. die Hälfte aller 3 Milben tot; am 30. Mai wurde gelüftet. Nach 3 Wochen setzte die unterbrochene Vermehrung wieder ein, wenn auch nicht sehr lebhaft.

3) 3 l  $\text{CO}_2$  + 3 l Luft = 50 Proz.  $\text{CO}_2$ . Nachdem am 23. Mai 1904 in  $\frac{1}{2}$  Stunde circa 4 l der Mischung in üblicher Weise die Kulturen passierten, haben alle Milben die Bewegung eingestellt. Am 25. Mai wurde gelüftet; *Tarsonemus* hatte am meisten gelitten, von *Glycy-*

phagus und Tyroglyphus war die Hälfte der Tiere tot. Nach ein paar Wochen vermehrten sich die Milben wieder. — Ein Kontrollversuch zeigte, daß die unter gleichen Umständen durch die 3 Kulturen geleitete Luft irgend einen schädigenden Einfluß auf die Milben nicht ausübt.

4) Reine  $\text{CO}_2$ , 2 Versuche. Je circa 4 l wurden in  $\frac{3}{4}$  Stunden durch die Kulturflaschen geleitet. Die Milben büßten die Bewegung vollständig ein und erholten sich sehr langsam. Glycyphagus und Tyroglyphus waren nach  $1\frac{1}{2}$  Monaten in schwacher Vermehrung begriffen. Tarsonemus starb, wohl durch Krankheit, in einem Versuche aus, im anderen vermehrte er sich. Die Versuche fanden am 18. und 25. Mai 1904 statt und es wurde am 25. resp. am 30. Mai gelüftet.

Eine merkliche Schädigung der Milben vermochte weder die mit Luft gemischte noch die reine Kohlensäure zu bewirken.

Schwefelige Säure aus  $\text{H}_2\text{O}$ -freiem  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  mit verdünnter  $\text{H}_2\text{SO}_4$  entwickelt. 1 g  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  gibt 0,5079 g  $\text{SO}_2$ . Es genügt, eine Menge von 0,10158 g  $\text{SO}_2$  im Liter um die Milben in ca. 20 Tagen zu töten = 20 kg  $\text{H}_2\text{O}$ -freies  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  für einen Raum von 100 cbm. Da das doppelte Quantum nur wenig stärker wirkt, so scheint die Grenze zwischen 20 und 40 kg zu liegen, was 40–80 kg des wasserhaltigen Produktes ( $\text{Na}_2\text{SO}_3 + 7 \text{H}_2\text{O}$ ) entspricht. 1 kg des letzteren kostet zur Zeit 50 cts., die Desinfizierung eines Raumes von 100 cbm somit 20–40 frcs. Das Resultat wird bestätigt durch folgenden Versuch mit den billigeren Schwefelschnitten.

Verbrennungsprodukte der Schwefelschnitte, welche ca. 96 Proz. S und 4 Proz. Papier enthalten. Von ihrem Schwefel verbrannten tatsächlich 34,45–37,25 Proz. Da nach vorigem Versuch 0,2–0,4 g  $\text{SO}_2$  im Liter nötig sind zum Töten der Milben, hielt sich der vorliegende in diesen Grenzen. Es wurde angenommen, daß durch die Verbrennung nur  $\text{SO}_2$  entsteht, obgleich daneben  $\text{SO}_3$ ,  $\text{CO}_2$  und Wasserdampf sich bilden. Es müssen zur wirklichen Verbrennung gelangen 0,123–0,144 g S pro 1 l oder 12,37–14,43 kg pro 100 cbm. 1 kg S in Stangen kostet 37,5 cts. und in Form von Schwefelschnitten ca. 45–50 cts., die Räucherung von 100 cbm würde also 6–7 frcs. kosten.

Der Kampfer, das beliebte Mittel der Mottenvertreibung, wirkt in Mengen von 0,40 und 0,46, von 1–1,5 g pro 1 l auf die Milben gar nicht ein. Die zuletzt genannte Menge hemmt zwar die Bewegung der Milben, tut aber der Fortpflanzung keinen Eintrag. Dagegen sind tödlich 2 g Kampfer pro 1 l, wenn auch erst nach längerer Zeit. Die am 3. Mai 1904 mit dieser Menge beschickten Gläser wiesen am 10. Mai nicht eine einzige lebende Milbe auf. Der hohe Preis des Kampfers schließt seine Verwendung vollständig aus; da 1 kg 10 frcs. kostet, müßte man für den Raum von 100 cbm 200 frcs. ausgeben.

Die verwendeten flüchtigen Flüssigkeiten wurden tropfenweise den Kulturgefäßen zugegeben. Sie befanden sich in gut schließenden Tropfgläschen, die vor und nach der Verteilung gewogen wurden. Es wurden immer zu einer ganzen Serie von Kulturen diese Flüssigkeiten zugesetzt und zwar von 1 Tropfen pro Glas angefangen bis zu mehreren. Der Durchschnitt ergab das Gewicht eines Tropfens.

Schwefelkohlenstoff. Zur augenblicklichen Tötung sind 0,76 g im Liter nötig. Es genügt aber eine Menge von 0,065 g  $\text{CS}_2$  = 2 Tropfen in 1 l, um die Milben samt Brut nach ca. 3–4-stündiger Einwirkung zu töten. Für 100 cbm werden 6,5 kg benötigt, die ca. 5 frcs., d. h. 75 cts. pro kg kosten.

**Aethyläther.** Ein Vorversuch zeigte, daß 0,0543 g in 1 l (vom 22. April 1904 bis 3. Juli 1904) erst nach 7 Wochen tödlich wirkt. Zwar waren die Milben unter der Einwirkung dieser Menge nach kurzer Zeit betäubt, aber sie erholten sich nach 1 Stunde und nach 4 Tagen waren von *Tyroglyphus* viele, von *Glycyphagus* alle Exemplare lebend; erst am 3. Juli 1904 waren alle 3 Milben tot. Es wirkte dagegen 0,377 resp. 0,4534 g in 1 l in kurzer Zeit tödlich. Auf dieser Grundlage wurde in weiteren Versuchen festgestellt, daß 0,09932 g oder rund 0,1 g Aether in 1 l oder 10 kg pro 100 cbm in 4–6 Stunden die Milben vernichten, was einem Kostenaufwand von 40 frcs. entspricht, den Preis des Aethers nach dem Kahlbaumschen Verzeichnisse gerechnet.

**Chloroform.** Um die Milben in 2 Stunden samt Brut zu töten, benötigt man 0,1885 g pro l oder rund 19 kg pro 100 cbm. Da 1 kg  $\text{CHCl}_3$  3 frcs. kostet, steigt die Ausgabe auf 57 frcs. Ein 14-tägiger Aufenthalt der Milben in einem Raume, der 0,0588 g  $\text{CHCl}_3$  in 1 l oder 6 kg in 100 cbm enthält, wirkt gleichfalls tödlich.

**Formaldehyd.** Zahlreiche Versuche bestätigen die geringe Wirksamkeit, über welche Ludwig l. c. Klage führt. Zur raschen Tötung sind  $\text{HCOH}$ -Dämpfe nötig, die 1 ccm einer 38,15-proz. Lösung in 500 ccm Luft entwickelt, d. h. 0,763 g  $\text{HCOH}$  in 1 l. Es gelangten zur Verwendung genau titrierte Lösungen von  $\text{HCOH}$  mit einem Gehalte von 38,15 Proz., 19,04 Proz. und 2,5 Proz.; die Menge  $\text{HCOH}$  ist hier als 100-proz.  $\text{HCOH}$  berechnet. In der Praxis müßte dabei für genügende Menge Wasserdampf gesorgt werden. Bei Anwendung von 0,05–0,07 g  $\text{HCOH}$  (100 Proz.) in 1 l ist eine geringe Wirkung erst nach 14 Tagen zu bemerken, tödlich ist diese Menge erst nach 3–4 Wochen. Es müßten also 5–7 kg (100 Proz.) oder 13–18,34 kg der 38,15-proz. Lösung verwendet werden pro 100 cbm, was 20–25 frcs. kosten würde. 0,1904 g  $\text{HCOH}$  im Liter wirken tödlich nach 10 Tagen = 47,31 kg pro 100 cbm; diese Menge kostet 75 frcs. Eine rasche Tötung wird erreicht mit der doppelten Menge, was indessen mit einer Ausgabe von 125 frcs. verbunden wäre nach dem jetzigen Preise von 1,55 frcs. pro 1 kg des ca. 40-proz. Formaldehyds.

**Anilin,** dessen giftige Eigenschaften bekannt sind, wurde in Dampfform zur Vertilgung des *Sitophilus granarius* und anderer Insekten von Hoffmann und Lindner<sup>1)</sup> gebraucht. Durch 0,522 g im Liter werden die Milben in  $\frac{1}{2}$  Stunde getötet, doch sind bei 1-stündiger Einwirkung weit geringere Mengen für die Tiere und ihre Brut tödlich. Man muß mindestens 0,174 g  $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$  pro 1 l anwenden, wenn auch 0,087 g nach längerer Zeit wirksam sind. Die Kosten belaufen sich bei Anwendung von 0,174 g pro 1 l oder 17,4 kg in 100 cbm auf 25–26 frcs., da das billige käufliche Anilin den Preis von 1,50 frcs. hat.

Von den hier geprüften flüchtigen Substanzen haben sich als die billigsten Schwefelkohlenstoff und Schwefelschnitten erwiesen. In zweiter Linie wären  $\text{CHCl}_3$  und  $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$  in Betracht zu ziehen.  $\text{CS}_2$  und  $\text{CHCl}_3$  dürften wegen ihrer Gefährlichkeit ausgeschlossen sein, während mit der Ausgabe, welche die Verwendung des  $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$  erfordert, das Vierfache derjenigen Menge an Schwefelschnitten verbrannt werden kann, welche als notwendig sich herausstellte, um eine nachhaltige Wirkung zu erzielen. Es dürfte somit Räucherung mit fein verteiltem Schwefel

1) Hoffmann, Das Versuchskornhaus u. s. wissensch. Aufgaben. Berlin 1904, p. 194.



am ehesten sich empfehlen. Da alle hier geprüften desinfizierenden Substanzen von den Futter- und Nahrungsmitteln absorbiert werden, in ihnen auch chemische Veränderungen bewirken, können sie anstandslos nur zur Desinfizierung von Räumen benutzt werden.

In den Berichten der Gewährsmänner Ludwigs ist von gut gemeinten Versuchen, die Milben zu vertilgen, die Rede. Ueber die Ausführung dieser meist mißlungenen Versuche fehlen die näheren Daten. Die Bekämpfung der Tyroglyphinae war nicht durchgreifend genug, der Invasionsherd intakt gelassen. Wenn beispielsweise in einer Wohnung im Hause eines Kolonialwarenhändlers Unmengen des *Glycyphagus spinipes* sich einnisteten, so waren doch zunächst „die Kolonialwaren“ auf Milben zu untersuchen. Man kann ruhig annehmen, daß in einem anderen Falle die Nähe einer Bäckerei, in einem dritten der Umstand, daß die Wohnung in einem Neubau sich befand u. a. m., die Grundlagen von neuen Invasionen wurden. Allen solchen Dingen ist Beachtung zu schenken. Aber unabhängig davon ist es z. B. begreiflich, daß 9 Pfund Schwefel zur Ausräucherung einer ganzen Wohnung ungenügend waren. Ich übergehe die Angaben dieses Forschers über den Gebrauch des Formalins, Lysols, Phenols, Aethers, des Kampfers, des Schwefelkohlenstoffes u. a. m., weil sie keinen exakten Beitrag zur Lösung der Frage nach dem besten Vertilgungsmittel der Milben liefern. Die Stimmen des Publikums sagen, wie gewohnt, nichts Genaueres aus. Eines scheint sich mit einiger Sicherheit herauszuschälen und bestätigt die bisherigen Erfahrungen. Dies ist die große Widerstandsfähigkeit der Milben, besonders des *Glycyphagus spinipes*. Diese Art erfreut sich einer kräftigen Konstitution, welche allen Gefahren des Lebens Trotz bietet.

Daß Gegenstände und Möbel 1¼ Stunde ohne Wirkung dem überhitzten Wasserdampfe ausgesetzt werden konnten, ist sehr unwahrscheinlich. Ludwig erwähnt noch den Desinfektionsapparat Buchenaus, als das zweckmäßigste Mittel der Vertilgung. Diese Einrichtung ist mir aus eigener Anschauung nicht bekannt.

Es ist lebhaft zu bedauern, daß nur sehr wenige genaue Studien über Milbenvertilgung und die Vertilgung der schädlichen, Speicher bewohnenden Insekten vorliegen. Sie stellen nur geringe Anfänge dar gegenüber der großen Literatur, welche mit den Parasiten auf Kulturpflanzen sich beschäftigt. Einige Arbeiten zieht Trouessart <sup>1)</sup> heran. Danysz <sup>2)</sup> studierte quantitativ die Wirkung des persischen Insektenpulvers auf *Ephestia Kühniella*. Einen interessanten Beitrag über die Wirkung des Schwefelkohlenstoffes lieferte Schiemenz <sup>3)</sup>. Hoffmann <sup>4)</sup> wendet Schwefelkohlenstoff und Anilin mittelst besonderer Vorrichtung an. Die genannten Forscher geben auch über quantitative Verhältnisse Auskunft. Damit ist allerdings die Literatur über den Gegenstand nicht erschöpft, aber leider kann aus den Ergebnissen den Zwecken der Milbenvertilgung kaum ein Nutzen entspringen, da diese viel schwieriger auszuführen ist. Die Käfer können, wenn sie der Starre verfallen, gesiebt werden, bei Milben schlägt dieses Mittel nicht. Einige Vorschläge sind vielleicht doch unseren Zwecken dienlich, so

1) Trouessart, Les parasites des habitations etc.

2) Danysz, Mémoires du Laborat. de Parasitologie végétale de la bourse du commerce. T. I. Paris 1893.

3) Schiemenz, Wochenschr. f. Brauerei. Berlin 1904. No. 9.

4) Hoffmann, Das Versuchskornhaus etc. Berlin 1904. p. 168—189.

z. B. das von Hoffmann empfohlene Weißen der Speicherwände mit einer Mischung von Kalk und Anilin.

Trouessart hat sich mit dieser Frage auch beschäftigt, wir verdanken ihm einige interessante Daten über die Widerstandsfähigkeit der Tyroglyphinae. Er stellte fest, daß die in großen Mengen auf Korinthen vorkommende Tyroglyphinae *Carpoglyphus passulorum* in gallisierten Südweinen sich ebenso heimisch fühlt, und große Vorräte desselben im Jahre 1897 unverkäuflich machte<sup>1)</sup>. Als Gegenmittel empfiehlt er das Pasteurisieren des Weines und bemerkt hierbei, daß diese Milbe nach 36-stündigem Aufenthalte in rektifiziertem Alkohol von 90° noch lebte. Anlässlich einer Untersuchung der Milben im Mehl erwähnt der gleiche Forscher<sup>2)</sup> die vollständige Zerstörung von 10000 Schachteln Schuhwichse durch *Tyroglyphus siro* L. Die große Lyoner Fabrik setzte infolgedessen der Wichse 0,5 g Sublimat pro 1 kg der Ware zu, ohne des Uebels Herr zu werden. Die Milbe ernährte sich in der Schuhwichse von Fett und Melasse.

Das wirksamste Mittel der Vertilgung ist das Darren, welches nicht nur im Kampfe gegen schädliche Insekten in Futter- und Nahrungsmitteln Eingang gefunden, sondern von Lindner<sup>3)</sup> gegen Milben im Malz angewandt wurde. Es genügt nach Lindner eine Erwärmung auf 50° C, um sowohl Milben als ihre Brut zu töten. Trotzdem die Wirksamkeit dieses Verfahrens durch meine Versuche Bestätigung fand, muß es hier kurz besprochen werden, weil im Verhalten der 3 Milben bemerkenswerte Verschiedenheiten auftraten. Milbenreiche Kulturen wurden im Thermostaten bestimmte Zeiten gehalten. Um den Temperaturausgleich möglichst bald herzustellen, wurden zwischen Glaswand und den Stöpsel dünne Papierstreifen gelegt.

35° C. Kultur in Kleie mit 15,92 Proz. Wassergehalt. Die Kulturen wurden am 20. Februar 1904 11 h Vormittags in den auf 35° erwärmten Thermostaten gestellt; um 12 h und um 1½ h bewegten sich noch viele Milben. Um 2½ h Nachmittags waren *Tyroglyphus* und *Tarsonemus* unbeweglich. Nach Herausnahme aus dem Thermostaten änderte sich ihr Zustand nicht und nach 3 Monaten, am 4. Mai 1904, traten keine jungen Milben auf. Eine 3½-stündige Erwärmung auf 35° tötet also die beiden Milben. *Glycyphagus spinipes* hielt diese Erwärmung gut aus, um 2½ h Nachmittags lebten alle Tiere und um 5 h waren nur einzelne Tiere unbeweglich. Die *Glycyphagus*-Kolonie besaß 24 Stunden im Thermostaten, 21. Februar 1904, bei dieser Temperatur belassen, zur Hälfte tote, zur anderen lebhaft bewegliche Tierchen. Ein weiterer 24-stündiger Aufenthalt bei 35° bis 3 h Nachmittags am 22. Februar ließ immerhin ca. 1/3 dieser Milben am Leben, die Bewegungen derselben waren zwar verlangsamt, doch nahm die Lebhaftigkeit nach der Abkühlung wieder zu. *Glycyphagus* bewies in der Folge, am 4. Mai 1904, daß er keinen dauernden Nachteil erfuhr. — Mit großem Interesse verfolgte ich Gemische von Kulturen aller 3 Milben, in denen nach 5–6-stündigem Aufenthalt bei 35° alle Exemplare des *Tyroglyphus* und *Tarsonemus* starben, während *Glycyphagus*

1) Trouessart, L'acarien des vins sucrés du midi. La Nature. T. XXIII. 1897. p. 226 und C. R. de l'Ac. d. sc., T. CXXV. 1897. p. 363.

2) Trouessart, C. R. de la Soc. de Biologie. 1897. p. 931.

3) Lindner, Mikroskop. Betriebskontrolle im Gärungsgewerbe. 2. Aufl. p. 53; 4. Aufl. p. 90.

nach 44-stündiger Einwirkung das oben erwähnte Verhalten aufwies: ca.  $\frac{1}{3}$  der Milben dieser Art entging dem Tode, denn in den am 4. Mai 1904 geprüften Gemischen war nur *Glycyphagus* am Leben. Es ist dies ein fundamentaler Unterschied, den man gegebenenfalls zur Reinkultur dieser Milbe verwenden kann.

40—41° C. Wassergehalt der Kleie 15,92 Proz. Nach 2-stündiger Erwärmung am 25. Mai 1904 sind *Tyroglyphus* und *Tarsonemus* tot, *Glycyphagus* aber erst nach 3-stündiger Erwärmung. Der Zustand der Kulturen bis zum 4. Mai 1904 zeigte, daß die beiden zuerst genannten Milben getötet wurden. Da das Glas mit *Glycyphagus* verloren ging, wurde dieser Versuch wiederholt.

39—40,5°. Kleie mit 14,2 Proz. Wasser. Ein Aufenthalt von 1 Stunde, 26. Mai 1904, unterdrückte jede Lebensäußerung. *Glycyphagus* bewegte sich nach der Abkühlung ganz langsam, die beiden anderen Milben zeigten kaum eine Spur des Lebens. Nach 24 Stunden waren aber alle 3 Milben auf der Wanderung.

Die gleichen Gläser wurden darum nochmals erwärmt, am 27. Mai 1904, jetzt aber 2 Stunden lang. Die Folge war, daß *Tyroglyphus* und *Tarsonemus* getötet und eingeschrumpft waren, *Glycyphagus* zwar leblos schien, aber nicht eingeschrumpfte. Nach 3 Tagen, 30. Mai, lebten einzelne Exemplare des *Glycyphagus*; von diesem Zeitpunkte an trockneten die an den Wänden befindlichen Tiere dieser Art und am 3. Juni 1904 schienen alle 3 Milben tot zu sein. Am 14. Juli lebte aber *Glycyphagus* auf und vermehrte sich fleißig. Die Larven und Eier dieser Milbe hatten die Erwärmung überstanden.

40—45° C. Kleie mit 14,2 Proz. Wasser. Nach 1½-stündigem Aufenthalte im Thermostaten bei dieser Temperatur am 1. März 1904 gehen alle 3 Milben, ohne darin wesentliche Unterschiede zu zeigen, zu Grunde. Auch später tritt Vermehrung (4. Mai 1904) nicht ein.

45° C. Der Versuch wurde mit Kulturen in gleicher Weise wie der vorige ausgeführt. Nach 1-stündiger Einwirkung (29. Mai 1904) schienen alle 3 Milben tot zu sein. Am 30. Mai lebte nur *Glycyphagus*. *Glycyphagus* wurde darum noch 2 Stunden der Wärmewirkung ausgesetzt; 1 Stunde nach Abkühlung ist kein Leben zu bemerken (30. Mai 1904). Die große Widerstandsfähigkeit dieser Milbe trat auch hier hervor, indem am 30. Mai von Milben, die am Glase unbeweglich lagen, nicht alle eingetrocknet waren; noch am 3. Juni hatte ihr Zustand sich wenig geändert, am 4. Juli aber traten sehr viele junge, lebhaft sich bewegende Tiere auf. — Es wurden am gleichen Tage zwei weitere Gläser mit *Glycyphagus*-Kulturen 2 Stunden lang im Thermostaten gehalten. 4 Stunden später schienen sie tot zu sein, ganz gleich am 3. Juni, obgleich zahlreiche Exemplare nur geringe Schrumpfung zeigten. Am 14. Juli sind jedoch zahlreiche junge Milben aufgetaucht. Es darf daraus geschlossen werden, daß zur Vertilgung dieser Milbe die Erwärmung auf 45° intermittierend vorgenommen werden muß, also etwa 3mal im Laufe einer Woche. Mit Vorteil wird man jedoch zu einer höheren Temperatur übergehen und die Erwärmung auf 50 bis 53° steigern.

50 bis 53° C. Kleiekulturen mit 14,2 Proz. Wasser. Sie wurden am 14. Juli 1904 1 Stunde lang im Thermostaten gehalten. Alle 3 Arten der Milben sterben nach dieser Behandlung und die Eintrocknungserscheinungen der an der Glaswand sich befindenden Exemplare aller Milben weisen keine Unterschiede auf. Eine sichere Wirkung des

Darrens ist also nach 1 Stunde bei 50—53° C zu erreichen, was die Erfahrungen Lindners bestätigt.

Die Resultate vorliegender Versuche stehen in einem gewissen Widerspruche mit einigen Angaben Ludwigs l. c. p. 2 über starkes Heizen der Zimmer, „wobei die Kerzen schmolzen“, das zum Zwecke der Milbenvertilgung angewandt, erfolglos blieb.

Die wichtigsten Belege über die Kulturen und die Versuche zur  
Tötung von Milben.

Die Stoffe des gleichen Wassergehaltes wurden stets in 2—3 Flaschen mit der gleichen Milbe infiziert. Meistens verhielten sich die Kulturen in allen Flaschen gleich, also gute oder schlechte Vermehrung zeigend etc. Dies war die Regel. Damit ist nicht gesagt, daß im Nachstehenden die Lebensgeschichte jeder einzelnen Kultur gegeben werde. Wenn z. B. die eine Kultur offenbar mit schlechtem Erfolge angesetzt war, so mußte sie von der weiteren Beobachtung ausgeschlossen werden. Die Befunde sind auf das Allerwesentlichste gekürzt gegeben und nicht jede Kleinigkeit weitläufig besprochen, welche die fast tägliche Prüfung aller Kulturen mit der Lupe zu Tage förderte. Besonders viel Streichungen erfuhren die Belege unter II. Manche interessante Beobachtung kommt hier gar nicht zum Ausdruck, denn nicht die Widerstandsfähigkeit sollte studiert, sondern die Menge des Stoffes ermittelt werden, die den gewünschten Effekt hervorbringt.

Reich an Pilzen waren Maisgries, Erdnuß- und Leinkuchen nebst Kleie; aus ihnen wurden die Pilze meist isoliert. Maisgries und Erdnuß zeichneten sich durch Arten der Gattung *Aspergillus* aus. In der ersten Spalte ist der ursprüngliche Wassergehalt, rechts davon horizontal seine successive Zunahme verzeichnet. In den Tabellen sind folgende Bezeichnungen abgekürzt benutzt worden: H<sub>2</sub>O: Proz.; ursprünglicher H<sub>2</sub>O-Gehalt: H<sub>2</sub>O urspr.; *Glycyphagus spinipes*: Glyc.; *Tarsonemus spec.*: Tars.; *Tyroglyphus farinae*: Tyr.; Vermehrung: V.; keine Vermehrung: Ø; geringe: ger.; große: gr.; kolossale: ∞; Geruch: Ger.; Milben: M.; Substanz: S.; alle lebend: a. leb.; wenige tot: w. tot; viele tot: v. tot; alle tot: a. tot; verschimmelt: vers.; vollständig verschimmelt: vollst. vers.; Bewegung der Milben verlangsamt: Bew. verl.; keine Wirkung: Wirk. Ø; Milben unbeweglich: unbew.

I. Einfluß des Wassergehaltes des Futters auf die Milbenvermehrung.  
Kleie.

H <sub>2</sub> O urspr.	V.	H <sub>2</sub> O	V.	H <sub>2</sub> O	V.
11. März 1904		22. April 1904		3. September 1904	
I. Tyr. 11,4 Proz.	Ø	11,54 Proz.	ger. w. tot	11,36 Proz.	a. tot
Tars. 11,4 „	Ø	11,54 „	„ „ „	11,42 „	S. u. M. etwas
Glyc. 11,4 „	Ø	11,65 „	„ „ „	11,40 „	vers.
11. Februar 1904		7. März 1904.		3. September 1904	
II. Tyr. 13,2 Proz.	∞	(?) 53,9 Proz.	∞	16,62 Proz.	∞
Tars. 13,2 „	∞	12,94 „	∞	12,52 „	gr.
Glyc. 13,2 „	Ø	13,04 „	ger. w. tot	12,66 „	M. vers. a. tot.
					S. nicht vers.
17. März 1904		12. April 1904		3. September 1904	
III. Tyr. 14,2 Proz.	∞	21,5 Proz.	ger.	unbestimmbar	S. u. M. vers.
Tars. 14,2 „	∞	13,48 „	gr.	12,78 Proz.	a. leb.
Glyc. 14,2 „	ger.	13,38 „	„	13,62 „	S. u. M. vers. a. tot
17. März 1904		22. April 1904		3. September 1904	
IV. Tyr. 15,8 Proz.	∞	40,08 Proz.	S. u. M. vers.	49,26 Proz.	S. u. M. vers. schmierg.
Tars. 15,8 „	∞	40,0 „	a. tot		1 Klumpen
Glyc. 15,8 „	∞	32,6 „	gr., muffig	47,78 „	a. leb. V. ger., muffig
			S. u. M. vers.	21,6 „	S. u. M. vers. schmierg.
			a. tot		

## Maisgries.

H <sub>2</sub> O urspr.	V.	H <sub>2</sub> O	V.	
8. Juli 1903		7. März 1904		
I. Tyr. 13,73 Proz.	ø a. tot	13,5 Proz.	M. vers.	
Tars. 13,73 "	ø " "	13,57 "	a. tot	
Glyc. 13,73 "	ø " "	13,54 "	S. nicht vers.	
? Februar 1903		20. April 1903		
II. Tyr. 15,22 Proz.	gr.	15,54 Proz.	∞ etwas	
Tars. 15,22 "	gr.	15,03 "	Schimmel	
Glyc. 15,22 "	gr.	15,52 "	∞	
? Februar 1903		20. April 1903		
III. Tyr. 16,32 Proz.	gr.	17,26 Proz.	gr. etwas schmie-	
Tars. 16,32 "	gr.	16,78 "	rig, viele tot	
Glyc. 16,32 "	∞	17,30 "	gr. S. vers.	
? Februar 1903		20. April 1903		
IV. Tyr. 16,52 Proz.	S. u. M. vers.	16,1 Proz.	alle 3 tot	
Tars. 16,52 "	a. tot	16,56 "	S. u. M.	
Glyc. 16,52 "	gr.	17,84 "	vers.	
? Februar 1903		20. April 1903		
V. Tyr. 18,56 Proz.	∞ dann	21,6 Proz.	a. tot	Am 20. Mai a. M. tot.
Tars. 18,56 "	∞ a. tot	19,32 "	S. u. M. vers.	
Glyc. 18,56 "	∞ S. u. M. vers.	22,46 "		

## Erdnußkuchenmehl.

H <sub>2</sub> O urspr.	V.	H <sub>2</sub> O	V.	H <sub>2</sub> O	V.
10. Juli 1903		30. August 1903		1. September 1904	
I. Tyr. 11,04 Proz.	gr.	—	{ v. tot u. an der Glaswand kle- bend, einge- trocknet. V. ø	10,71 Proz.	} unverän- dert. V. ø
Tars. 11,04 "	gr.	—		10,78 "	
Glyc. 11,04 "	gr.	—		—	
10. Juli 1903		30. August 1903			
II. Tyr. 13,08 Proz.	gr. u. M. vers.	25,62 Proz.	{ S. u. M. vollst. vers., am Glase klebend, a. tot		
Tars. 13,08 "	gr.	—			
Glyc. 13,08 "	ger.	25,14 Proz.			
10. Juli 1903		30. August 1903			
III. Tyr. 15,96 Proz.	{ Anfangs gr., dann alle M. vers. u. a. tot	unbe- stimmbar	{ S. ganz schmie- rig geworden, vollst. vers.		
Tars. 15,96 "					
Glyc. 15,96 "					
10. Juli 1903		30. August 1903			
IV. Tyr. 16,0 Proz.	u. 16,5 Proz.	Ganz gleiche Zustände wie in III. Nach kurzer Zeit S. u. M. vers., a. M. tot. S. schmierig u. zu Klum- pen geballt. H <sub>2</sub> O unbe- stimmbar			
u. V. Tars. 16,0 "	" " 16,5 "				
Glyc. 16,0 "	" " 16,5 "				

## Leinkuchenmehl.

H <sub>2</sub> O urspr. V.				H <sub>2</sub> O V.			
14. Juli 1903				1. September 1903			
I. Tyr.	12,02	Proz.	ger.	11,56	Proz.	gr., a. tod	
Tars.	12,02	"	gr.	11,66	"	gr., a. leb.	
Glyc.	12,02	"	θ	11,12	"	gr., a. leb.	
16. Juli 1903				1. September 1903			
II. Tyr.	13,5	Proz.	gr.	12,2	Proz.	gr., a. leb.	
Tars.	13,5	"	gr.	12,6	"	gr., a. leb.	
Glyc.	13,5	"	gr.	11,86	"	gr., v. tot	
16. Juli 1903				1. September 1903			
III. Tyr.	15,92	Proz.	∞	unbestimm- { Sehr starke V., sehr viel Gänge, die bar { einfallen. Große Ansammlung von Schalenteilen an der Oberfläche. Nach 1 Mon. S. u. M. vers. Ger. abscheulich			
Tars.	15,92	"	∞				
Glyc.	15,92	"	∞				
16. Juli 1903				1. September 1903			
IV. Tyr.	16,02	Proz.	∞	Vollständig gleiche Zustände wie in III. Nach 1 Mon. a. M. tot.			
Tars.	16,02	"	∞				
Glyc.	16,02	"	∞				

## Sesamkuchenmehl.

H <sub>2</sub> O urspr. V.				H <sub>2</sub> O		V.	
10. Juli 1903				30. August 1903			
I. Tyr.	10,94	Proz.	ger.	—	}	a. M. vers., obgleich S. kaum vers.	
Tars.	10,94	"	a. tot	—			
Glyc.	10,94	"	a. tot	—			
10. Juli 1903				30. August 1903			
II. Tyr.	14,0	Proz.	gr.	—	}	zunächst gr., dann a. 3 M. vers. u. a. tot. S. wenig vers.	
Tars.	14,0	"	gr.	—			
Glyc.	14,0	"	ger.	—			
10. Juli 1903				30. August 1903			
III. Tyr.	15,08	Proz.	gr.	—	}	a. M. tot, in einigen Flaschen $\frac{1}{2}$ leb. u. bald nachher a. tot. Starke Kot- bildung u. schmierig. S. u. M. später vollst. vers.	
Tars.	15,08	"	∞	—			
Glyc.	15,08	"	∞	—			
10. Juli 1903				30. August 1903			
IV. Tyr.	{ H <sub>2</sub> O unbestimmt, ? Tars. } doch höher als { ? Glyc. } im III. }	{ ? ? ?	{ ? ? ?	—	}	in 3 Wochen S. u. M. vollst. vers. bei a. 3 M.-Kulturen	
Tars.				—			
Glyc.				—			

## Rapskuchenmehl.

H <sub>2</sub> O urspr.      V.				H <sub>2</sub> O                      V.		H <sub>2</sub> O                      V.	
14. Juli 1903				3. September 1903			
I. Tyr.	10,82	Proz.	ger.	12,34	Proz.	} a. 3 M. tot	
Tars.	10,82	"	θ	10,2	"		
Glyc.	10,82	"	θ	10,82	"		

H <sub>2</sub> O urspr.	V.	H <sub>2</sub> O	V.	H <sub>2</sub> O	V.
14. Juli 1903		? Dezember 1903			
II. Tyr.	12,62 Proz. ∞	23,88 Proz.	a. 3 M. tot. S.		
Tars.	12,62 " gr.	—	u. M. vollst.,		
Glyc.	12,62 " gr.	—	schmierig u.		
			vollst. vers.		
14. Juli 1903		30. Juli 1903		15. Januar 1904	
III. Tyr.	13,9 Proz. ∞	—	zunächst ∞ bei	—	S. u. M. vollst.
Tars.	13,9 " ∞	—	a. 3 M., dann v.	—	vers. Bei a. 3
Glyc.	13,9 " ∞	—	tot am Glase, v.	—	M. einz. Exem-
		—	M. vers., H <sub>2</sub> O	—	plare noch n.
			unbestimmbar		9 Mon. leb.
14. Juli 1903		30. Juli 1903			
IV. Tyr.	16,06 Proz. { a. M. vers.	—	rasch S. u. M. voll-		
Tars.	16,06 " { Es konnte	—	st. vers. H <sub>2</sub> O		
Glyc.	16,06 " { keine V.	—	unbestimmbar.		
		—	S. nach kurzer		
			Zeit schmierig		

## II. Versuche zur Vertilgung der Milben.

Schweflige Säure aus Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (H<sub>2</sub>O-frei) mit verdünnter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> entwickelt. In jede zum Versuch dienende Kultur wurde ein 8 cm hohes und 1,5—2 cm breites Präparatengläschen mit abgewogener Menge Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> tief in das Futtermittel gesteckt, jedoch so, daß die Oeffnung des Gläschens über das Futtermittel ragte. Verd. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wurde vorsichtig tropfenweise zugesetzt und das Kulturglas möglichst rasch geschlossen. 1 g Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> entwickelt 0,5079 g SO<sub>2</sub>. Alle Kulturen wurden am 31. Mai 1904 stark gelüftet.

1) 0,1 g Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> oder 0,10158 g SO<sub>2</sub> in 1 l.

Tyr. 12. Mai 1904 fast a. leb., 13. Mai w. tot, 15. Mai fast a. tot, 25. Mai a. tot, 13. Juli a. tot  
Tars. 12. " 1904 " " " 13. " " " 15. " " " " 25. " " " " 13. " " "  
Glyc. 12. " 1904 " " " 13. " " " 15. " " " " 25. " " " " 13. " " "

2) 0,2 g Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> oder 0,20316 g SO<sub>2</sub> in 1 l.

Tyr. 12. Mai 1904 Bew. verl., 13. Mai v. tot, 15. Mai fast a. tot, 25. Mai a. tot, 13. Juli a. tot  
Tars. 12. " 1904 " " " 13. " w. " 15. " " " " 25. " " " " 13. " " "  
Glyc. 12. " 1904 " " " 13. " " " " 15. " " " " 25. " " " " 13. " " "

3) 0,4 g Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> oder 0,40632 g SO<sub>2</sub> in 1 l.

Tyr. 13. Mai 1904 in paar Min. a. tot, 16. Mai fast a. tot, 25. Mai fast a. tod, 13. Juli tot  
Tars. 13. " 1904 " " " 16. " " " " 25. " " " " 13. " " "  
Glyc. 13. " 1904 erst in 5 St. fast a. tot, 16. " " " " 25. " " " " 13. " " "

## Schweflige Säure durch Verbrennen der S-Schnitten erzeugt.

Ein Stück Schwefelschnitte im Gewicht von 6,378 g, dem durch mechanische Reinigung und Behandlung mit CS<sub>2</sub> der S entzogen wurde, bestand aus 6,118 g S und 0,260 g Papier; die S-Schnitten enthalten also 95,92 Proz. S. Frei unter der Kapelle angezündet, verbrennt ca. 50 Proz. des Schwefels in der Glasflasche, wie sie im Text unter dem Versuche mit CO<sub>2</sub> erwähnt und die auch hier verwendet wurde, weit weniger. Obgleich auch ein unbestimmter Teil des Papiers mitverbrennt, seine Menge jedoch nur 4 Proz. der Substanz beträgt, so wurde das Papier in der Rechnung vernachlässigt. Für die Praxis ist diese Ungenauigkeit kaum von Bedeutung. Neben SO<sub>2</sub> entstehen H<sub>2</sub>O-Dampf, SO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub>; der wirklich verbrannte Schwefel wurde trotzdem auf SO<sub>2</sub> berechnet.

Ein Stückchen von 15 × 100 mm = 2,999 g. S-Schnitten wurden in der Glasflasche verbrannt. Hiervon blieb zurück auf dem Papier + unverbranntes Papier 0,268 g und der in die Flasche getropfte unverbrannte S, der zurückgezogen wurde, 1,617 g. Es verbrannte somit 1,114 g S auf 6 l Inhalt oder 0,1856 g in 1 l. Von einem anderen Stückchen von 15 × 80 mm = 2,514 g blieb auf dem Papier 0,354 g

und in der Flasche 1,294 g; es verbrannte somit 0,866 g S auf 6 l oder 0,1443 g S auf 1 l. Es verbrennen also 34,45–37,25 Proz. des benutzten Schwefels.

1) 0,1856 g S oder 0,3712 g  $\text{SO}_2$  in 1 l; 2 l durchgegangen. Die Kulturen befanden sich in U-Röhren.

Tyr. 29. Mai 1904 sofort unbew., nach 2 Stdn. v. leb., 30. Mai a. tot, gelüftet, 13. Juli a. tot

Tars. 29. „ 1904 „ „ „ 2 „ „ „ 30. „ „ „ „ 13. „ „ „

Glyc. 29. „ 1904 „ „ „ 2 „ „ „ 30. „ „ „ „ 13. „ „ „

2) Eine S-Schnitte  $15 \times 80 \text{ mm} = 2,514 \text{ g}$ , d. h. 0,1443 g oder 0,2886 g  $\text{SO}_2$  in 1 l.

Tyr. 29. Mai 1904 a. tot, 30. Mai a. tod, gelüftet, 13. Juli a. tot} Trotzdem am 13. Juli

Tars. 29. „ 1904 „ „ 30. „ „ „ 13. „ „ „ } Glyc. sich etwas ver-

Glyc. 29. „ 1904 „ „ 30. „ w. leb., „ 13. „ w. leb. } mehrte, später a. tot

3) 4 l der  $\text{SO}_2$  von 1) wurden mit 2 l Luft gemischt, d. h. 0,1237 g S. oder 0,2474 g  $\text{SO}_2$  in 1 l. (Die Kulturen v. 2 u. 3 befanden sich in  $\frac{1}{2}$  l-Flaschen.)

Tyr. 29. Mai 1904 sofort unbew., nach 2 Stdn. leb., 30. Mai a. tot, gelüftet, 30. Juli a. tot

Tars. 29. „ 1904 „ „ „ 2 „ „ „ 30. „ „ „ „ 30. „ „ „

Glyc. 29. „ 1904 „ „ „ 2 „ „ „ 30. „ „ „ „ 30. „ „ „

Schwefelkohlenstoff. Wassergehalt der Kleie 16,6 Proz. Alle flüssigen Stoffe, die zur Benutzung gelangten, wurden aus Tropfgläsern geprüfter Qualität auf ein Stückchen Filtrierpapier, das in das Kulturgefäß gelegt wurde, direkt gegossen. Rasche Manipulation ist hierbei notwendig. Die Stopfen der Kulturen waren gedichtet. Da immer eine größere Anzahl von Kulturen gleichzeitig desinfiziert wurde, sind die angegebenen Gewichte Durchschnittszahlen. Wenn 2mal die gleiche Zahl Tropfen benutzt wurde, so ist das Gewicht natürlich nicht das gleiche. Es wird das benutzte Quantum auf 1 l berechnet. Alle Gefäße mit Kulturen hatten einen Inhalt von 500 ccm. Gelüftet wurden die Kulturen am 11. Juni 1904.

1) 1 Tropfen  $\text{CS}_2 = 0,0325 \text{ g}$  oder 0,065 g in 1 l.

Tyr. 15. Mai 1904 in 3 Stdn. a. tot, auch später a. tot

Tars. 15. „ 1904 „ 3 „ „ „ „ „ „ „

Glyc. 15. „ 1904 „ 3 „ „ „ „ „ „ „

2) 1 Tropfen  $\text{CS}_2 = 0,0425 \text{ g}$  oder 0,085 g in 1 l; für Tars.\* jedoch 0,075, für Glyc.\*\* 0,0896 g in 1 l.

Tyr. 24. April 1904 nach paar Minuten a. tot, 26. April a. tot, 11. Mai a. tot

Tars.\* 24. „ 1904 „  $\frac{1}{4}$  Std. v. tot, in 2 Std. a. tot, 26. „ „ „ 11. „ „ „

Glyc.\*\* 24. „ 1904 „  $\frac{1}{4}$  „ v. leb., „ 2 „ „ „ 26. „ „ „ 11. „ „ „

3) 2 Tropfen  $\text{CS}_2 = 0,07125 \text{ g}$  oder 0,1425 g in 1 l; für Glyc.\* jedoch 0,1729 g in 1 l.

Tyr. 29. April 1904 in 3–5 Min. a. tot, 3. Mai a. tot, 1. Juni a. tot

Tars. 29. „ 1904 „ 3–5 „ „ „ 3. „ „ „ 1. „ „ „

Glyc.\* 29. „ 1904 „  $\frac{1}{4}$  Std. v. leb., in 2 Std. a. tot, 3. „ „ „ 1. „ „ „

4) 4 Tropfen  $\text{CS}_2 = 0,108 \text{ g}$  oder 0,216 g in 1 l; für Glyc.\* jedoch 0,2688 g in 1 l.

Tyr. 29. April 1904 in paar Min. a. tot, 3. Mai a. tot, 1. Juni a. tot

Tars. 29. „ 1904 „ „ „ „ 3. „ „ „ 1. „ „ „

Glyc.\* 29. „ 1904 „ „ „ „ 3. „ „ „ 1. „ „ „

Aethyläther über Na destilliert. Wassergehalt der benutzten Kleie 15,52 Proz.

Die Flaschen wurden am 31. Mai stark gelüftet und kurze Zeit im Thermostaten bei  $35^\circ$  gehalten; trotzdem ist später keine Vermehrung eingetreten.)

1) 1 Tropfen  $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O} = 0,02925 \text{ g}$  oder 0,0585 g in 1 l; für Tars.\* jedoch 0,0525 g in 1 l.

Tyr. 29. April 1904 Wirk. 0, nachtr. w. betäubt, 3. Mai a. leb. V. 0, 11. Mai a. tot, 15. Juni a. tot

Tars.\* 29. „ 1904 „ 0, „ „ „ 3. „ „ „ 0, 11. „ „ „ 15. „ „ „

Glyc. 29. „ 1904 „ 0, „ „ „ 3. „ „ „ 0, 11. „ „ „ 15. „ „ „

2) 2 Tropfen  $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O} = 0,04966 \text{ g}$  oder 0,09932 g in 1 l.

Tyr. 16. Mai 1904 betäubt, nach 4 Std. a. tot, 3. Juni a. tot

Tars. 16. „ 1904 „ „ 4 „ „ „ 3. „ „ „

Glyc. 16. „ 1904 „ „ 4 „ „ „ 3. „ „ „



3) 3 Tropfen  $(C_2H_5)_2O = 0,06775$  g oder 0,1355 g in 1 l; für Glyc.\* jedoch 0,1575 g in 1 l.

Tyr.	3.	Mai	1904	in	2	Std.	a.	tot,	11.	Mai	a.	tot,	3.	Juni	und	15.	Juni	a.	tot
Tars.	3.	"	1904	"	2	"	"	"	11.	"	"	"	3.	"	"	15.	"	"	"
Glyc.*	3.	"	1904	"	2	"	"	"	11.	"	"	"	3.	"	"	15.	"	"	"

#### Chloroform. Kleiekultur mit 15,34 Proz. Wasser.

1) 1 Tropfen  $CHCl_3 = 0,0294$  g oder 0,0588 g in 1 l.

Tyr.	16.	Mai	1904	in	3	Std.	a.	tot,	1.	Juni	a.	tot
Tars.	16.	"	1904	"	3	"	w.	"	1.	"	"	"
Glyc.	16.	"	1904	"	3	"	a.	"	1.	"	"	"

2) 2 Tropfen  $CHCl_3 = 0,06625$  g oder 0,1325 g in 1 l; für Glyc.\* jedoch 0,1247 g in 1 l.

Tyr.	3.	Mai	1904	in	paar	Min.	betäubt,	in	2	Std.	a.	tot,	11.	Mai	a.	tot
Tars.	3.	"	1904	"	"	"	"	"	2	"	"	"	11.	"	"	"
Glyc.*	3.	"	1904	"	"	"	"	"	2	"	"	"	10.	"	"	"

3) 3 Tropfen  $CHCl_3 = 0,09426$  g oder 0,1885 g in 1 l; für Tyr.\* jedoch 0,1764 g in 1 l.

Tyr.*	1.	Juni	1904	in	$\frac{1}{4}$	Std.	a.	tot,	10.	Juni	a.	tot,	13.	Juli	a.	tot
Tars.	16.	Mai	1904	"	$\frac{1}{4}$	"	"	"	10.	"	"	"	13.	"	"	"
Glyc.	16.	"	1904	"	2	"	"	"	10.	"	"	"	13.	"	"	"

4) 4 Tropfen  $CHCl_3 = 0,114$  g oder 0,228 g in 1 l; für Glyc.\* jedoch 0,2493 g in 1 l.

Tyr.	3.	Mai	1904	in	paar	Min.	a.	tot,	11.	Juni	a.	tot,	13.	Juli	a.	tot
Tars.	3.	"	1904	"	"	"	"	"	11.	"	"	"	13.	"	"	"
Glyc.*	3.	Juni	1904	"	"	"	"	"	11.	"	"	"	13.	"	"	"

#### Formaldehyd. Kulturen in Kleie mit 16,6 Proz. Wasser.

Es gelangten zur Verwendung genau titrierte Lösungen von HCOH, und zwar die konzentrierte mit 38,15 Proz. HCOH, solche mit 19,04 Proz. und 2,5 Proz. HCOH.

1) 8 Tropfen einer Lösung von 2,5 Proz. HCOH = 0,027075 g Gehalt an HCOH oder 0,05415 g HCOH in 1 l.

Tyr.	29.	April	1904	a.	leb.,	4.	Mai	w.	tot,	30.	Mai	a.	tot,	stark	gelüftet,	8.	Juli	a.	tot.
Tars.	29.	"	1904	"	"	4.	"	"	"	30.	"	"	"	"	"	8.	"	"	"
Glyc.	29.	"	1904	"	"	4.	"	"	"	30.	"	"	"	"	"	8.	"	"	"

2) 20 Tropfen einer 2,5-proz. Lösung von HCOH = 0,03375 g Gehalt an HCOH oder 0,0675 g HCOH in 1 l.

Tyr.	29.	April	1904	w.	tot,	4.	Mai	w.	tot,	10.	Mai	a.	leb.,	30.	Mai	a.	tot,	gelüftet,	8.	Juli	a.	tot.
Tars.	29.	"	1904	"	"	4.	"	"	"	10.	"	w.	tot,	30.	"	"	"	"	8.	"	"	"
Glyc.	29.	"	1904	"	"	4.	"	"	"	10.	"	"	"	30.	"	"	"	"	8.	"	"	"

3) 0,5 ccm einer 19,04-proz. Lösung von HCOH = 0,0952 g HCOH oder 0,1904 g HCOH in 1 l (für Glyc.\* jedoch 0,1907 g in 1 l).

Tyr.	1.	Mai	1904	w.	tot,	v.	leb.	n.	14	Std.,	4.	Mai	w.	tot,	10.	Mai	a.	tot,	30.	Mai	u.	8.	Juli	a.	tot.
Tars.	1.	"	1904	"	"	"	"	"	14	"	4.	"	"	"	10.	"	"	"	30.	"	"	8.	"	"	"
Glyc.	1.	"	1904	"	"	"	"	"	14	"	4.	"	"	"	10.	"	"	"	30.	"	"	8.	"	"	"
Glyc.*	1.	Juni	1904	"	"	n.	2	Std.	v.	tot,	?				?				?			8.	"	"	"

4) 0,5 ccm einer 38,15-proz. Lösung von HCOH = 0,19075 g HCOH oder 0,3815 g HCOH in 1 l.

Tyr.	11.	Mai	1904	w.	tot,	12.	Mai	v.	tot,	30.	Mai	a.	tot,	auch	nachher
													[am	8. Juli.	

Tyr.	3.	"	1904	"	"	4.	"	w.	"	10.	Mai	a.	tot,	30.	"	"	"	desgl.
Tars.	12.	"	1904	v.	betäubt,	15.	"	"	"	30.	"	"	"	"	"	"	"	"
Glyc.	11.	"	1904	w.	tot,	12.	"	"	"	30.	"	"	"	"	"	"	"	"
Glyc.	3.	"	1904	"	"	4.	"	v.	leb.,	30.	"	"	"	"	"	"	"	"

Es war bemerkenswert, daß von Tars. vom 12. Mai und von Glyc. vom 3. Mai ziemliche Mengen junger Milben auskrochen, die sich etwas akklimatisierten, aber schließlich nach und nach ausstarben.

5) 1 ccm einer 38,15-proz. HCOH-Lösung = 0,3815 g HCOH oder 0,763 g HCOH in 1 l.

Tyr. 3. Mai 1904 nach 14 Std. v. tot, 4. Mai w. leb., 10. Mai a. tot, 8. Juni a. tot, 31. Juni a. tot.

Tars. 3. „ 1904 „ 14 „ „ „ 4. „ „ „ 10. „ „ „ 8. „ „ „ 31. „ „ „

Glyc. 3. „ 1904 „ 14 „ „ „ 4. „ „ „ 10. „ „ „ 8. „ „ „ 31. „ „ „

#### Anilin. Kleiekulturen von unbestimmtem Wassergehalt mit kolossalen Milbenmengen.

1) 1 Tropfen  $C_6H_5NH_2$  = 0,0435 g oder 0,087 g in 1 l.

Tyr. 21. Juli 1904 nach 1 Std. w. leb., 23. Juli a. tot, 18. August a. tot.

Tars. 21. „ 1904 „ 1 „ „ „ 23. „ „ „ 18. „ „ } s. viele junge leb.

Glyc. 21. „ 1904 „ 1 „ „ „ 23. „ „ „ 18. „ „ } gr. V.

2) 2 Tropfen  $C_6H_5NH_2$  = 0,087 g oder 0,174 g in 1 l.

Tyr. 21. Juli 1904 w. leb., 23. Juli a. tot, auch später am 18. August.

Tars. 21. „ 1904 „ „ 23. „ „ „ „ „ „ 18. „

Glyc. 21. „ 1904 „ „ 23. „ „ „ „ „ „ 18. „

3) 3 Tropfen  $C_6H_5NH_2$  = 0,261 g oder 0,522 g in 1 l.

Tyr. 21. Juli 1904 nach  $\frac{1}{2}$  Std. a. tot, auch später gar keine Vermehrung.

Tars. 21. „ 1904 „  $\frac{1}{2}$  „ „ „ „ „ „ „

Glyc. 21. „ 1904 „  $\frac{1}{2}$  „ „ „ „ „ „ „

#### Inhalt.

**Burri, B. und Duggeli, M.**, Bakteriologischer Befund bei einigen Milchproben von abnormaler Beschaffenheit, p. 709.

**Kohn, Eduard**, Zur Biologie der Wasserbakterien, p. 690.

**Maurizio, A.**, Zur Lebensweise der Milben der Familie der Tyroglyphinae

in Futter- und Nahrungsmitteln. (Schluß), p. 723.

**Omellianski, W.**, Ueber Methanbildung in der Natur bei biologischen Prozessen, p. 673.

**Wehmer, C.**, Zur Oxalsäurebildung durch *Aspergillus niger*, p. 688.

# Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XV. No. 24.

## Referate.

**Vuillemin, Paul**, *Hyphoides et bactéroïdes*. (Comptes rend. acad. des sciences. Paris. T. CXL. 1905. p. 52.)

Verf. beschrieb früher Hyphen eines Pilzes, der auf den Bakterienknöllchen der Leguminosen lebt, und nannte ihn *Cladochytrium tuberculosum*. Nach nochmaligem Untersuchen mußte Verf. aber feststellen, daß die gesehenen Hyphen nur die von der Wirtszelle umscheideten Massen der Bakterien sind. Er benennt diese merkwürdigen hyphenförmigen Gebilde „hyphoides“. Matouschek (Reichenberg).

**Lafar, Franz**, *Handbuch der technischen Mykologie*. 2. Aufl. Jena (Gustav Fischer) 1904—1905.

Dem großzügig angelegten und bereits vor 2 Jahren im obigen Verlage in vollkommener Ausführung erschienenen „Handbuch der pathogenen Mikroorganismen“ von Kolle-Wassermann kann das fünf-bändige „Handbuch der Technischen Mykologie“ zur Ergänzung dienen; nach den bis jetzt herausgegebenen 9 Lieferungen darf die wissenschaftliche Welt sich dieses Zuwachses erfreuen und wird solches den technischen Betrieben gewiß ein guter Ratgeber sein.

Im ersten Band wird neben der vom Herausgeber selbst geschriebenen Einleitung die allgemeine Morphologie, Entwicklungsgeschichte, Anatomie und Systematik der Schizomyceten und Eumyceten auch die Chemie der Zellen, sowie deren allgemeine Physiologie der Ernährung gebracht (Abschnitt 1—4). Der 5. Abschnitt behandelt die Wirkung äußerer Einflüsse auf die Gärungsorganismen und deren gegenseitige Beeinflussung, Abschnitt 6 und 7 enthalten die Keimfreimachung, Reinzüchtung und physikalische Wirkung der Bakterien und der 8. Abschnitt die glykosidspaltenden Pilzenzyme und die Oxydasen.

Der zweite Band stellt in den ersten 4 Abschnitten alle bis jetzt errungenen Kenntnisse über Milch und Molkereiwesen zusammen, welchen dann die Abschnitte über Mykologie, der Haltbarmachung von Fleisch, Gemüse und Tierfutter, sowie Zuckerfabrikation und Bäckereiwesen folgen.

Der dritte Band beginnt mit dem Kreislauf des Stickstoffes, geht im 2. Abschnitt auf das Spezialgebiet der Eisenbakterien, Cladothricheen, Streptothricheen, Actinomyceten und den Kreislauf des Schwefels über, um im 3. Abschnitt die Zersetzung der Baustoffe der pflanzlichen Zellwände zu erörtern. Die Abschnitte 4 und 5 erledigen die Mykologie des Wassers, des Bodens und des Düngers.

Die allgemeine Morphologie, Entwicklungsgeschichte und Anatomie der Saccharomyceten, spezielle Ernährungsphysiologie und Vermehrung, sowie Methodik der Hefenreinzucht folgen in den ersten Abschnitten des vierten Bandes, denen sich die Systematik der Saccharomyceten und deren Variabilität anschließen. Die letzten Abschnitte unterrichten über einige technisch wichtige höhere Ascomyceten und verwandte Formen, sowie über bekanntere Sproßpilze aus der Gruppe der Fungi imperfecti, dann folgen noch die Enzyme und die Hefenenzymwirkungen, sowie Mucorineengärungen.

Der fünfte und letzte Band beginnt mit der Mykologie der Tabakfabrikation und Gerberei und geht dann auf die Haltbarmachung des Obstes über. Im 3. Abschnitt wird in 5 Kapiteln in ausführlichster Form die Mykologie des Brauwesens behandelt, welchem sich die ebenso wichtigen Abschnitte über Spiritusbrennerei, Preßhefenfabrikation, Weinbereitung einschließlich Obstwein, Beerenwein und Metan schließen. Der letzte Abschnitt berichtet über die durch Pilztätigkeit zu stande kommende oder bewirkte Bildung und Zersetzung einiger technisch wichtigen und physikalisch bedeutsamen organischen Säuren.

Aus dieser kurzen Aufzählung des Hauptinhaltes dürfte sich die Reichhaltigkeit dieses mit Spannung und großen Erwartungen begrüßten Handbuches ergeben, bürgen doch auch die Namen der meist sehr bekannten Mitarbeiter für die Gediegenheit der Abhandlungen und der G. Fischersche Verlag für die äußere Ausstattung, welche durch zahlreiche Figuren und Tafeln angenehme Ergänzung findet.

In abschnittsweise folgenden Referaten werden je nach dem Eingange der Lieferungen kurze Berichte gebracht werden. — So enthält die 2. und 4. Lieferung des III. Bandes den Kreislauf des Stickstoffes.

Im 1. Kapitel (Prof. Dr. Koch) wird die Bindung des freien Stickstoffes durch frei lebende niedere Organismen erörtert, haben doch die bakteriologischen Erfahrungen der neueren Zeit bewiesen, daß allgemein verbreitete Bakterien aus der Gruppe der fäulniserregenden, nitrifizierenden und denitrifizierenden den Stickstoff aus Verbindungen in Freiheit setzen. Wenn nun auch hierdurch der Vorrat an Stickstoffverbindungen ständig verringert wird, so wird andererseits derselbe aus dem Vorrat an freiem, atmosphärischem Stickstoff wieder ergänzt.

Den bestimmten Nachweis, daß es freien Stickstoff assimilierende niedere Organismen gibt, führte zuerst Berthelot und nach dessen Untersuchungen gelang es zuerst Winogradsky, die Natur derselben zu ergründen, indem er die anaërobiotische Bakterienform *Clostridium Pasteurianum* isolierte, welches in N-freier Nährlösung bei Gegenwart gewisser Kohlenstoffverbindungen kräftig freien N assimiliert; diesen Untersuchungen folgten die Beijerinckschen „Anhäufungsversuche“, welche zur Isolierung des *Azotobacter* führten (p. 5 ff. und Tafel 1). Bezüglich des Verlaufes der Bindung freien N ist zunächst zu bemerken, daß die dazu befähigten Organismen denselben zu ihrer Ernährung verwenden und daher die Endprodukte des ganzen Prozesses stickstoffhaltige Verbindungen der Körpersubstanz des betreffenden Organismus sind. Ob außer dem erwähnten *Clostridium* und *Azotobacter* noch andere Bakterien freien N binden können, steht zur Zeit nicht fest; bezüglich der Verwendungsfähigkeit freien N zur Ernährung von Angehörigen anderer Gruppen des Pflanzenreiches herrscht bezüglich der Pilze (Eumyceten) noch keine völlige Klarheit. Dagegen ist die weitere Frage, ob Algen freien N binden können, seinerzeit durch Frank bejaht worden, wie auch derselbe Forscher die Ansicht vertritt, daß auch die höheren grünen Pflanzen zur Stickstoffassimilation befähigt sind, während andere Autoren, so Hiltner und Richter, dies für höhere Pflanzen mit Ausnahme der Leguminosen, bestreiten. Sehr interessant sind die Bedingungen, unter denen die niederen Organismen N binden; so wissen wir durch Gerlach und Vogel, daß *Azotobacter* zu seiner Ernährung unentbehrlich Kalk und Phosphorsäure bedarf und daß das Maß der Entwicklung der Stickstoffbinder und die Menge des von ihnen assimilierten N

durch die Menge der verfügbaren Kohlenstoffnahrung bestimmt wird. Alle Autoren aber sind darin einig, daß bezüglich des Einflusses der Gegenwart von N-Verbindungen auf das Wachstum der freien N bindenden Bakterien die Bindung selbst herabgesetzt wird, wenn erhebliche Mengen von N-Verbindungen vorhanden sind; Berthelot verlangt direkt für N-Bindung einen N-armen Boden.

Diesem Abschnitt ist schließlich noch Zahlenmaterial beigelegt, welches Ernteerhöhung durch häufiges Umschaufeln des Bodens während des Winters beweist und N-Gehalt und N-Aufnahme in gelüftetem und nichtgelüftetem Boden angibt, womit die gesteigerte N-Bindung infolge der durch Luftzufuhr eingedrungenen Bakterien klar wird. Auch ist am Ende dieses Kapitels in § 4 die Bedeutung der Bindung freien N durch niedere Organismen für den Haushalt der wildwachsenden Pflanzen und für die Landwirtschaft angegliedert, aus welchem noch hervorgehoben sei, daß Deutschland jetzt jährlich 70 Mill. M. für Chilisalpeter und 30 Mill. M. für Ammonsulfat als Düngemittel ausgibt.

Im 2. Kapitel bespricht Regierungsrat Dr. **Hiltner** die Bindung von freiem N durch das Zusammenwirken von Schizomyceten und Eumyceten mit höheren Pflanzen. Eingehend auf den schon von alters her geltenden landwirtschaftlichen Grundsatz, daß es boden bereichernde und bodenzehrende Kulturpflanzen gibt, wird die wissenschaftlich festgelegte Tatsache besprochen, daß besonders die Kleearten, aber auch alle übrigen zur Familie der Schmetterlingsblütler gehörigen Pflanzen, wie Erbsen, Bohnen, Lupinen, Wicken u. s. w. Stickstoffmehrer, dagegen die Halmfrüchte, Hafer, Weizen u. s. w. und die Hackfrüchte, wie Rüben und Kartoffeln bei fortdauerndem Anbau auf einem nicht ständig weiter gedüngten Boden den N-Vorrat des Bodens mehr oder weniger rasch erschöpfen und daher Stickstoffzehrer sind. Daß dieser Unterschied durch das Vorhandensein der Wurzelknöllchen der Leguminosen resp. der in ihnen enthaltenen Bakterien hervorgerufen wird, beweisen die folgenden Paragraphen, woselbst auch eingehend Größe, Gehalt und Stellung der Knöllchen der verschiedenen Leguminosenarten durch Tschirch beschrieben sind. Die Knöllchen aber bilden sich nicht, wenn die gedachten Pflanzen in sterilisiertem Boden gezüchtet werden, woraus hervorgeht, daß deren Bildung durch Bodenorganismen hervorgerufen wird. In ausführlicher Weise werden die verschiedenen theoretischen Anschauungen behandelt und sei besonders auf die Hellriegelschen Schlüsse aufmerksam gemacht, von denen nur einer wörtlich wiedergegeben sei: „Die Leguminosen haben nicht an sich die Fähigkeit, den freien Stickstoff der Luft zu assimilieren, sondern es ist hierzu die Beteiligung von lebensfähigen Mikroorganismen im Boden unbedingt erforderlich, und um den freien Stickstoff der Ernährung dienstbar zu machen, genügt nicht die bloße Gegenwart beliebiger niedriger Organismen, sondern es ist nötig, daß gewisse Arten der letzteren mit den ersteren in ein symbiotisches Verhältnis treten.“ Woronin entdeckte 1866 zuerst die Knöllchenbakterien und eine große Anzahl namhafter Forscher hat inzwischen hierüber gearbeitet. So stellten Nobbe, Hiltner und Holter bezüglich der Artenfrage fest, daß die Bakterien der verschiedensten Leguminosen, also auch der Mimosaceen und Caesalpiniaceen einander morphologisch sehr ähnlich sind und gelang es ihnen nicht, irgend welche konstante morphologische Unterschiede aufzufinden, wie sie sich auch Beijerincks Anschauung von der Existenz zweier verschiedener Gruppen

Knöllchenbakterien nicht anschließen konnten. Dagegen haben ihre Versuche große Unterschiede im biologischen und physiologischen Verhalten der aus verschiedenen Leguminosenknöllchen in Reinkultur erhaltenen Bakterien ergeben, so daß Nobbe und Hiltner schließlich zu der Anschauung kamen, daß die Leguminosenbakterien nur Anpassungsformen ein und derselben Art seien. Da auch entgegenstehende Ansichten auftauchten, sei besonders auf p. 37—39 verwiesen. Sehr eingehend wird sodann die Entstehung und Ausbildung der Leguminosenwurzelknöllchen und des Bakteroidengewebes beschrieben und durch Figuren erläutert, auch das allmähliche Anwachsen des Gehaltes an gebundenem Stickstoff in den Knöllchen, sowie deren Reichtum daran im Vergleich zu dem der übrigen Wurzelteile durch Untersuchungen Stockklasas in Zahlen bewiesen.

Besonderes Interesse erwecken die Mitteilungen über die Ursachen, welche die Größe, Zahl, Stellung und Wirkung der Wurzelknöllchen bedingen, denen sich die Beziehungen zwischen den Bakterien und Wirtspflanzen anschließen. Ausführlich hebt Hiltner die Virulenzverhältnisse der Knöllchenbakterien (p. 45) hervor. Daß die N-Bindung in den Wurzelknöllchen selbst erfolgt, konnten Nobbe und Hiltner schon durch den Nachweis wahrscheinlich machen, daß die N-Sammlung an die Tätigkeit der Bakteroiden gebunden sei. Den Gedanken der Bodenimpfung für Leguminosen führte zuerst Salfeld aus, indem er einem Felde, auf welchem im Vorjahre Erbsen gut gediehen waren, aus der Ackerkrume Erde entnahm und sie auf die mit Erbsen zu bestellende Fläche überführte; tatsächlich bildeten die Erbsenpflanzen neue Knöllchen und brachten es zu einer normalen Entwicklung, welches günstige Resultat bei den früheren Versuchen, die Ems-Moore zur Erbsenanpflanzung zu gewinnen, nicht eingetreten war, da die bis dahin fehlenden Knöllchenbakterien im Boden keine weiteren ausbilden konnten. Daß Nobbe und Hiltner dann 1896 die Anwendung von Reinzuchten einführten, ist wohl meist bekannt, leider aber haben sich die gehegten Erwartungen nur vereinzelt ganz erfüllt, so daß die Höchster Farbwerke den Vertrieb dieser Zuchten — Nitragin — bereits 1900 wieder einstellten. Von Hiltner fortgesetzte Versuche ließen noch eine Wirkungssteigerung der Reinzuchten zu, wie auch das eigentliche Impfverfahren noch Verbesserungen erfuhr. Man scheint aber jetzt allgemein anzunehmen, daß die Erdimpfung mit Reinzuchten nur auf Moorböden Erfolg habe, da die meisten Ackererden die eingepflichten Bakterien rasch vernichten. Den Schluß dieses Kapitels bilden Angaben über das Vorkommen und die Bedeutung der Wurzelknöllchen bei verschiedenen Nichtleguminosen, von denen besonders die Knöllchen der Erlenarten hervorgehoben seien.

Das 3. Kapitel bringt die Vergärung des Harnstoffes, der Harn- und Hippursäure von Dr. P. Miquel-Paris, welcher zunächst über das „Geschichtliche“ berichtet, indem er anführt, daß die ersten Beobachtungen, welche sich mit der Umsetzung des Harnstoffes unter Zutritt eines Moleküls Wasser und Spaltung in Ammoniak und Kohlensäure beschäftigen, schon zu Ende des 18. Jahrhunderts gemacht wurden und Jacquemart und etwas später Müller den Vorgang studierten. Pasteur aber war es vorbehalten, durch Entdeckung des die Spaltung verursachenden Mikroben, der „Torule ammoniacale“, den wahren Grund festzustellen und van Tieghem bestätigte kurze Zeit darauf

die Tatsache. Durch später folgende Arbeiten Miquels wurde erwiesen, daß nicht allein Kugelbakterien, sondern auch Stäbchen und Schimmelpilze diese Umsetzung bewirken und Beijerincks Arbeiten aus 1901 fügen noch Bakterien aus der Luft, Boden und Wasser hinzu.

Von den kugeligen Harnstoffvergärrern, also *Urococcus* und *Urosarcine*, ist anzuführen, daß sie weniger tatkräftig sind und selten bei Temperaturen über 60—70° C lebend bleiben, die *Urobacillen* aber und *Eumyceten*, die Sporen bilden, überstehen die Einwirkung feuchter Wärme von 90—95° C. Alle Harnstoffbakterien gedeihen leicht bei gewöhnlicher Temperatur, besser noch bei etwa 30° C. Bei 0° entfalten sie keine Spalttätigkeit, dieselbe beginnt erst bei + 5° C. Nährböden zu ihrer Züchtung müssen alkalisch sein und wahrscheinlich sind alle Harnstoffbakterien Aërobier, wie sie auch sämtlich ein lösliches Enzym hervorbringen, welches den Harnstoff in angegebener Weise hydrolysiert. Reinzüchtung gelingt auf fast allen gewöhnlichen Nährböden unter Zusatz von 1—2 g Harnstoff auf 1 l und bei alkalischer Reaktion. Die Verbreitung der Harnstoffvergärer in der Natur ist sehr groß, so fand u. a. Miquel in den Wässern von Quellen und im Flußwasser von Paris auf 1000 gezählte Bakterien 15 Harnstoffvergärer, in den Kloakenwässern 52 und in den Abläufen von Aborten 66 solcher Wesen; bebauter Boden weist in seiner Oberfläche 1—2 Proz. der Keime als Harnstoffvergärer auf. Die wichtigsten dieser Art sind in ausgezeichnete Weise durch Text und Figuren in morphologischer und biologischer Beziehung auf p. 74—81 geschildert und den Schluß bilden Angaben über Urease und Vergärung der Harn- und Hippursäure, aus welchen zu ersehen, daß Miquel zuerst dieses Enzym aus höchst gärkräftigen Harnstoffbakterien durch Einsaat in günstig zusammengesetzte Bouillon erhielt. Harn- und Hippursäure sind gleichfalls der Spaltung durch die genannten Bakterien zugänglich, doch scheinen seit den Untersuchungen van Tieghems (1864) keine neueren Arbeiten hierüber vorzuliegen und bereits durch ihn wissen wir, daß sich Hippursäure in Benzoessäure und Glycocol spaltet.

Ueber Proteinfäulnis berichten im 4. Kapitel Prof. Dr. M. Hahn - München und Dr. A. Spickermann - Münster i. W.

Zur Umgrenzung der Begriffe über die Zersetzungen, denen Tier- und Pflanzenkörper nach erloschenem Leben unterliegen, bedient man sich schon seit langer Zeit der verschiedensten Bezeichnungen, aber erst durch die mykologische Forschung haben dieselben physiologische Erklärungen erhalten. Bei Luftabschluß wird die Zersetzung durch Anaëroben, bei Luftzutritt durch Aëroben vollführt. Die ohne Bildung unangenehmer Gerüche eintretende Zersetzung nennt man Verwesung im Gegensatz zu der mit Gestank verbundenen Fäulnis; dem Wesen nach sind Fäulnis und Vermoderung gleichartig, doch bedingt das verschiedene Mengenverhältnis der wichtigsten Stoffe (Proteine, Fette, Kohlenhydrate) wesentliche Abänderungen in ihrem äußerlichen Verlaufe, infolge dessen die Fäulnis organischer Abfälle eine Reihe ganz verschiedenartiger Zersetzungen umschließt. In der Biologie bezeichnet man jetzt mit Fäulnis die Zersetzung der Proteinstoffe, während man diejenige der Kohlenhydrate und anderer Stoffe als Gärungen abgetrennt hat. Bei der Fäulnis aber scheidet sich das Molekül der Proteine in eine große Zahl von Verbindungen mit immer kleinerem Molekül und die Zersetzung endet mit den einfachsten Verbindungen der Elemente, wie  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$ ,

H<sub>2</sub>S, organischen Säuren, Aminen u. a., und liefern die verschiedenen Proteine durch Zersetzung im wesentlichen dieselben Abfallstoffe.

Die älteren Untersuchungen über die Fäulnis haben für die Mykologie nur geringen Wert gehabt, da sie mit einem Gemisch unbekannter Bakterien arbeiteten, trotzdem aber waren sie für die Physiologie von der größten Bedeutung. Es folgen die diesbezüglichen Untersuchungen über *Bacterium thermo* und *B. vulgare*, ferner die farbstoffbildenden Fäulnisbakterien (*B. prodigiosus*, *B. fluoresc.*, *liquefac.*, *B. pyocyan.*), denen sich *B. coli commune* und die Darmfäulnis anschließen.

In weiteren Paragraphen werden die luftscheuen Fäulnisbakterien geschildert und die Fäulniserreger in zwei Gruppen geteilt, deren erste die eigentlichen Fäulniserreger bilden, welche die natürlichen Proteine zersetzen, während zur zweiten diejenigen zählen, welche die ersten noch proteinartigen Spaltungsstoffe der Proteine, wie z. B. die Albumosen und die Peptone, nicht aber die Proteine selbst zu zersetzen vermögen, indem ihnen das tryptische Ektoenzym fehlt.

Eingehend wird der Einfluß des Nährbodens auf die Fäulnisflora geschildert, welchem sich die Abhandlung über die Flora der natürlichen Fäulnis des Fleisches, der Milch und der Eier anschließt.

Dem verwickelten Abbau der Proteinstoffe und der Ptomaine ist ausführlichste Berücksichtigung zu teil geworden und sei hier besonders an das dem Bakteriologen wichtige Indol erinnert.

Im § 28 werden die Bakterientoxine besprochen, die im Gegensatz zu den beständigeren Ptomainen als sehr labil zu bezeichnen sind, bei Temperaturen über 60° C ihre Wirksamkeit sofort verlieren und auch sehr lichtempfindlich sind, wie auch chemische Eingriffe ihre Giftigkeit beeinträchtigen. Hieran schließen sich die Erklärungen der Begriffe über Antitoxine, Toxoide, Ekto- und Endotoxine und der Antikörper. Während dann die Stoffe, die eine Fällung der Bakterien bewirken, als Agglutinine bezeichnet werden, versteht man unter Präcipitinen die Stoffe, welche im Serum von mit flüssigen Bakterienkulturen immunisierten Tieren sich bilden und im keimfreien Filtrat der Bakterienzuchten Niederschläge erzeugen. Die Bakteriolysine aber entstehen bei Immunisierung mit lebenden Bakterien, welche in Verbindung mit den proteolytischen Enzymen des Blutes, den Alexinen, eine spezifisch lösende Wirkung auf die betreffenden Bakterien ausüben. § 29 ist ein für den technischen Mykologen sehr wichtiger, indem hier die durch Bakterien in Nahrungsmitteln erzeugten Gifte an der Hand einer reichen Literatur beschrieben werden; es sei ganz besonders auf die Fleisch-, Wurst-, Fisch- und Muschelvergiftungen hingewiesen, auch sei Interessenten das eingehende Studium der §§ 30 und 31 über Erkennung, Bestimmung, Darstellung, Eigenschaften, Wirkungsweise und Bildungsbedingungen der proteolytischen Bakterienenzyme empfohlen.

Das 5. Kapitel des III. Bandes enthält die „Nitrifikation“ aus der Feder von Prof. Dr. **Winogradsky**-Petersburg; er berichtet zunächst über die älteren Ansichten, die bezüglich der Nitrifikationsursachen herrschten und die besonders in den französischen Instruktionen über Salpeterhüttenanlagen ausgesprochen sind.

Daß auch nach Schönbeins Entdeckung das Ozon für diesen Prozeß verantwortlich gemacht wurde, sei nicht vergessen. — Eine bio-



logische Wendung der Ansichten über dieses Thema wurde erst durch Pasteurs Auffinden der die Essigbildung hervorrufenden Mycodermen veranlaßt, hatte man doch bis dahin angenommen, daß durch reine Oxydation, sei es Platinschwamm oder poröse Körper, die Umbildung von Alkohol in Essigsäure erfolgen könne. Aber ein größerer Zeitraum mußte vergehen, bis man diesem Winke Pasteurs folgte, und Schloessing und Müntz betraten dann erfolgreich diese Bahn, denen Warrington bestätigend folgte, so daß 1886 durch die Agrikulturchemiker feststand: „daß die Ammoniakoxydation auf irgend eine Weise durch die Lebenstätigkeit der Bodenorganismen bedingt sei“. Die Frage aber, ob es spezifische Nitrifikationserreger gebe, hoffte man nach Robert Kochs Einführung des Plattenverfahrens leicht lösen zu können, jedoch auch dieses versagte, bis 1889 Winogradsky mit der neuen Methode der „elektiven Kultur“ hervortrat. Da es bereits bekannt war, daß organische Nährstoffe hemmend auf die Nitrifikation einwirken, so gelangte zunächst eine Lösung von je 1 g Ammonsulfat und Kaliumphosphat auf 1 l Leitungswasser zur Anwendung und jedem 100 ccm dieser Lösung haltenden Kolben wurden 0,5–1 g basisch kohlensaurer Magnesia zugesetzt.

Leider ist es in einem räumlich beschränkten Referate untunlich, auf alle die schwierigen und zeitraubenden Forschungen auf diesem Gebiete einzugehen und so sei auf § 36, die Einrichtung der Nitrifikationsversuche in ammoniakalischen Lösungen, § 37, die chemische Kontrolle dieses Prozesses in ebensolcher Lösung und § 38, der Vorgang der Nitrifikation in gemischten Zuchten, hingewiesen.

Bezüglich des isolierten Nitritbildners teilt Winogradsky mit, daß es sich hier nicht um eine einzige Art handele, sondern um eine Gruppe zwar verwandter, aber morphologisch doch unterscheidbarer Wesen. So nimmt er an, daß eine in Schweizer Boden (Zürich) und eine bei Gennenvilliers (Frankreich) gefundene sich gleiche Art als westeuropäische Nitritbildner zusammenzufassen seien, die anfänglich als Nitromonas, später als Nitrosomonas benannt wurden. Die Seiten 152–162 bringen neben den diesbezüglichen Abbildungen die Morphologie und Züchtung des Nitritbildners auf festen Nährböden und dann die Beschreibung von Nitritbildnern verschiedener Herkunft nebst deren Abbildungen auf Tafel IV und V. Bezüglich der Ernährung des Nitritbildners und der Kohlensäureassimilation ergaben die Versuche, daß Entwicklung und Oxydation sowohl belichtet als in vollster Dunkelheit vor sich gehen und daß der Nitritbildner normal wachsen und kräftige Wirkung in einem Nährboden ausüben kann, auch wenn derselbe keine Spur organischer Substanz enthält. Aus beigefügter Tabelle ist ersichtlich, daß in den Zuchten neben der Nitrifikation ein Prozeß der Anhäufung des organisch gebundenen Kohlenstoffes stattfindet. Da dieser C aber in den Zuchten keine andere Quelle als die  $\text{CO}_2$ , und weil der Prozeß selbst keine andere Ursache als die Tätigkeit des nitrifizierenden Organismus haben kann, so folgt von selbst, daß diesem die Fähigkeit, Kohlensäure zu assimilieren, zuzuschreiben ist. Weiter hat sich gezeigt, daß zwischen den Werten des assimilierten C und denen des oxydierten N ein annähernd unveränderliches Verhältnis besteht.

Bezüglich des Einflusses verschiedener organischer und anorganischer Substanzen auf die Nitritation ist es wahrscheinlich, daß die  $\text{CO}_2$  die einzige Kohlenstoffquelle vorstellt und die diesbezüglichen Versuche

Winogradskys und Omelianskis haben gezeigt, daß organische Substanz keine günstige Wirkung auf die Nitritation in Reinzucht ausübt und daß durch die Anwesenheit organischer Nährstoffe die Entwicklung des Nitritbildners schon bei geringer Konzentration gehemmt resp. gänzlich aufgehoben wird.

Ganz besonders stark ist die hemmende Wirkung eines Zusatzes von Glukose und Pepton und aus weiteren Zusätzen ähnlicher Körper ergab sich, daß, je komplizierter, zersetzbarer und für die Mehrzahl der Mikroben assimilierbarer das Molekül einer organischen Substanz ist, daß dann desto höher deren nitrifikationswidriger Einfluß sich erhebt, welche Beobachtung auch bei den Nitratbildnern bestätigt wurde.

Ueber die Einwirkung verschiedener anorganischer Substanzen auf die Nitritation haben Boullanger und Massol Versuche angestellt, wobei sich ein Zusatz von 2—2,5 g Ammonsulfat per Liter als sehr günstig erwies und kann nach ihnen Nitritbildung auf Kosten verschiedener Ammonverbindungen bei Gegenwart von kohlensauen Basen stattfinden.

Bezüglich des Verhaltens des Nitritbildners den N-Verbindungen gegenüber ist der feinere Chemismus des Prozesses noch unklar und die Versuche Omelianskis, eine nitritbildende Oxydase zu isolieren, waren bis jetzt erfolglos. Es ist sicher, daß die oxydierende Tätigkeit des Nitritbildners sich einzig auf Ammoniakstickstoff erstreckt und daß derselbe sich dem N der protein- und amidartigen Körper gegenüber ganz unwirksam erweist, einer ammoniakspaltenden Tätigkeit ist er gänzlich unfähig, wie er auch keine unmittelbare Oxydation des organischen N zu stande bringen kann.

Der Nitratbildner aber wurde 1891 in nitrifizierenden Zuchten einer Erdprobe aus Quito entdeckt und sind in § 45 über die Morphologie dieses interessanten Mikroben, ebenso wie über seine Züchtung auf flüssigen und festen Nährböden die eingehendsten Angaben nachzusehen. Für seine morphologischen Studien eignet sich am besten der feste Nitritagar; dieselben ergaben, daß der Nitritbildner keine Schwärmer zu bilden scheint. Betreffs der Kohlenstoffernährung des Nitratbildners sind keine besonderen Versuche ausgeführt worden, da man sich zur Annahme berechtigt hielt, daß er seinen C-Bedarf nur aus freier, bezw. halbgebundener  $\text{CO}_2$  decken kann.

Die Versuche von Winogradsky und Omelianski über den Einfluß verschiedener organischer Substanzen auf die Nitratation haben gezeigt, daß dieser Organismus weniger empfindlich ist als der Nitritbildner und zwar tritt dieser Unterschied besonders beim Verhalten gegen N-haltige Substanzen wie Pepton, Asparagin und Harnstoff hervor, dagegen ist bei Einwirkung anorganischer Substanzen der schädliche Einfluß von Ammon auf den Nitratbildner sehr deutlich, übertrifft dieser doch in seinem entwicklungshemmenden Einflusse die kräftigsten Antiseptika und die in dieser Hinsicht von Boullanger und Massol ermittelten Zahlen kommen denen von Winogradsky und Omelianski sehr nahe; gegen Salze von Schwermetallen und andere giftige Metalle ist der Nitratbildner auch weniger empfindlich und Eisensalze begünstigen den Prozeß, weshalb sie ja auch der Nährlösung zugesetzt werden.

Den Schluß dieses Kapitels bildet die Betrachtung des natürlichen Nitrifikationsvorganges, wie in den Salpeterplantagen, im Boden und in den biologischen Kläranlagen für die Abwässerreinigung.

Die Denitrifikation und Stickstoffentbindung beschreibt im 6. Kapitel Mag. scient. **Hjalmar Jensen** - Buitenzorg, indem er die Vorgänge der Reduktion von Nitraten zu Nitriten und Ammoniak (Salpeterreduktion), ferner derselben zu niedrigeren, gasförmigen Stickstoff-Sauerstoffverbindungen ( $N_2O$  und  $NO$ ), sowie der Abspaltung elementaren N (Denitrifikation im engeren und eigentlichen Sinne) auseinanderhält, denen sich die Umbildung des Salpeterstickstoffes in organische Verbindungen (Salpeterassimilation) und Freiwerden von N bei der Fäulnis organischen N anschließt.

Der 2. Abschnitt bringt die Eisenbakterien und den Kreislauf des Schwefels und im 7. Kapitel werden die ersteren, sowie die Cladothricheen, Streptothricheen und Actinomyceten von Dr. **Rullmann** - München besprochen. Wir ersehen daraus, daß gerade in letzter Zeit eine wesentliche Bereicherung der morphologischen Kenntnisse zu verzeichnen ist und daß Schorler eine neue hierhergehörige Gattung, *Clonothrix*, aufstellte. Die Unsicherheit in der Differenzierung der Cladothricheen, Streptothricheen und Actinomyceten dürfte jetzt geschwunden sein, wenn daran festgehalten wird, daß erstere sich durch unechte Verzweigung (Pseudoramifikation) auszeichnen, die Streptothricheen aber nach Harz u. a. zu den zweifellosen Schimmelpilzen zu rechnen sind, aus deren Mycel baumartig verzweigte, aufrechte Hyphen sich erheben, meist einen sympodialen Aufbau zeigen und teils sitzende, teils gestielte Sporen tragen. Daß Corda diesen Namen schon lange hierfür vergeben hatte, ist von vielen Forschern lange Zeit übersehen und so kam es, daß man meist den Actinomyceten angehörige Organismen irrtümlich zu den Streptothricheen rechnete. Beigegebene Figuren, so besonders die Figur 22 und Tafel VI bringen unanfechtbare Beweise für die Berechtigung der jetzigen Benennungsweise und die Seiten 204—205 stellen die maßgebenden Ansichten zusammen. Hervorgehoben wird hierbei, daß die Actinomyceten durchaus nicht als harmlos zu bezeichnen sind und da solche sehr häufig an Getreidekörnern, Gras- und Strohhalmen haften, ist darauf zu achten, daß man solche nicht in den Mund nimmt und damit stochert, da nachgewiesenermaßen häufig schwere aktinomykotische Erkrankungen die Folge waren. § 56 bringt die Physiologie der im Haushalte der Natur so wichtigen Eisenbakterien und hat auch hier die neueste Zeit wesentlich ergänzende Arbeiten geliefert.

Der folgende Paragraph handelt von dem „Erdgeruch“ und dessen Erreger, als welchen Rullmann seinerzeit den *Actinomyces odorifer* zunächst aus einer Zwischendeckenfüllung und später aus verschiedenen Erdproben isolierte. Mit dieser Reinzucht ist es möglich, auf allen organischen Nährböden „Erdgeruch“ zu erzeugen und aus größeren Kulturmengen wurde ein konzentriertes ätherisches Destillat gewonnen, welches tropfenweise verstäubt, große Räume mit Erdgeruch zu erfüllen vermag. Salzmann nahm später diese Studien wieder auf und zeigte Einsaaten des *Actinomyces odorifer*, daß er aus den Kalksalzen der meisten organischen Säuren gleichfalls sehr kräftig Erdgeruch in kurzer Zeit bildet; dieses und das zuerst von Rullmann festgestellte Verhalten zeigen, wie durch bakteriellen Einfluß in der Erde die Pflanzenreste mit ihren Kohlenhydraten und den übrigen organischen Körpern zur Bildung des weitverbreiteten Erdgeruches beitragen.

Dr. **Omellanski** - Petersburg hat in Kapitel 8 den Kreislauf des Schwefels behandelt und bespricht zunächst in § 58 und 59 die Bildung von Schwefelwasserstoff bei Zersetzung der Proteinkörper, sowie

seine Entstehung aus O-haltigen anorganischen Schwefelverbindungen. Durch die Untersuchungen von Petri und Maassen, Rubner u. a. ist erwiesen, daß eine große Anzahl von Mikrobenarten sich an der Zersetzung der Eiweißkörper unter  $H_2S$ -Ausscheidung beteiligt und daß nur wenige existieren, die nicht mitwirken; daß man den sich aus solchen Zuchten entwickelnden  $H_2S$  leicht durch eingeklemmtes Bleipapier nachweisen kann, ist bekannt.

Die Entstehung von  $H_2S$  aus Sulfaten, Sulfiten und Thiosulfaten als Ergebnis der reduzierenden Bakterieneinwirkung läßt sich in einfacher Weise nach den Versuchen von Beijerinck, Selinsky u. a. nachweisen, indem sie Reinzuchten von Bakterien, welche sie aus dem Schlamm des Schwarzen Meeres erhalten hatten, dazu verwendeten und Nadson hat erst kürzlich unter anaëroben Bedingungen mit Reinzuchten von *Proteus vulgaris* und *B. mycoides* Reduktionen von Sulfaten in Gegenwart von Peptonen herbeigeführt. Die bisherigen Beobachtungen sprechen dafür, die reduzierende Wirkung von Bakterien auf S-haltige Substanzen als ein spezifisches Merkmal einzelner Mikroben aufzufassen, welches von den besonderen Eigenschaften ihres Protoplasmas abhängt und auf S. 218—219 werden dann besondere Nährböden zur Isolierung von *Spirill. desulfuricans* und ähnlicher von Beijerinck angegeben.

Bezüglich der Bildung von  $H_2S$  als Ergebnis der Vereinigung von freiem S mit H (Hydrogenisation des Schwefels) hat Miquel 1879 interessante Beobachtungen gemacht, indem er aus Abwässern einen beweglichen *Bacillus* züchtete, welcher Eieralbumin unter  $H_2S$ -Bildung zersetzte; er benannte ihn „Ferment sulfhydrique“ und stellte die Hydrogenisation des S als für diesen *Bacillus* spezifisch hin, Duclaux dagegen bestreitet diese Eigenschaft.

Wahrscheinlich aber geht die Hydrogenisation mit reduzierenden Fäulnisprozessen Hand in Hand; Winogradsky beobachtete das allmähliche Schwinden von S unter Bildung von  $H_2S$  bei fauliger Zersetzung von S-Tröpfchen enthaltenden Beggiasträngchen, hierbei sah er unter dem Mikroskop den S von der Mitte des Präparates nach dem Umfang auswandern. Auch makroskopisch hat Beijerinck dies nachgewiesen (p. 220).

§ 61 bespricht die  $H_2S$ -Bildung in den Meeren und Seen. Daß dieser Prozeß sich auch im Boden und im Untergrunde der Städte, namentlich im Sommer, bemerkbar macht, ist bekannt; er kann, wie Saltet von Amsterdam mitteilt, die Gesundheit der Bewohner bedrohen. Für den Balneologen ist es wichtig, den Gehalt an  $H_2S$  in Heilquellen, Schlamm von den Seen u. s. w. nach Möglichkeit zu erhalten und für den Geologen und Biologen ist es interessant, die Entwicklung dieses Gases in Seehäfen und Meeresbuchten, in denen große organische Massen verfaulen, sowie in einigen Meeren, zu verfolgen. Nadson hat über die Größe des Gehaltes an  $H_2S$  in den natürlichen Wasserbecken Untersuchungen angestellt; so fand er beispielsweise in dem Grundwasser des russischen Weissowo-Salzsees in der Tiefe von 18,7 m in einem Liter 184,96 ccm  $H_2S$  und die russische Tiefsee-Expedition von 1891 konnte in einer Tiefe von 200—400 m angefangen überall im Schwarzen Meere  $H_2S$  nachweisen, so daß es eigentlich als Schwefelwasserstoffmeer zu benennen ist. — Daß es bei den in diesen Tiefen stattfindenden Zersetzungen sich meist nur um Anaëroben handeln kann, ist natürlich. Omelianski hebt besonders noch die Limane hervor, seichte salzige

Seen, welche z. B. bei Odessa vom offenen Schwarzen Meere nur durch eine niedrige Landzunge getrennt sind und deren Schlamm zu Heilzwecken in Gestalt von plastisch-formlosen, schwarzen Massen verwendet wird und bei alkalischer Reaktion stark nach  $H_2S$  riecht.

Eingehende Schilderung beanspruchen die Schwefelbakterien bezüglich ihrer Verbreitung und Züchtungsmethoden. Wir wissen, daß durch die biologischen Vorgänge in der Natur große Mengen von  $H_2S$  entstehen und da es notwendig ist, daß dieses giftige Gas wieder verarbeitet wird, so findet zum Ausgleich seine Oxydation zu Schwefelsäure einestheils durch den Luftsauerstoff, andertheils aber durch besondere Mikroben statt, welche Winogradsky als Schwefelbakterien bezeichnete und die sich durch das Vorkommen von Schwefeltröpfchen in ihrem Protoplasma auszeichnen. Im Gegensatz zu den  $H_2S$ -bildenden und stark reduzierenden Bakterien äußern die Schwefelbakterien eine kräftig oxydierende Wirkung und gebührt ihnen daher in der Geschichte der Mikrobiologie ein hervorragender Platz. Nach Winogradsky sind sie überall in Sümpfen, Tümpeln u. s. w. verbreitet und selbst da, wo man ihr Vorhandensein nicht ahnt, sind sie, wenn auch in geringer Menge, vorhanden. Namhaft vermehren sie sich in Gewässern, welche eine gewisse Menge  $H_2S$  gelöst enthalten und ist ihr Hauptfundort in den Schwefelquellen. Sie können besonders im Spätherbst und Frühjahr fast in jedem Sumpfe beim Faulen der Pflanzenreste der vorhergegangenen Vegetationsperiode durch Bildung von  $H_2S$  leicht nachgewiesen werden und besonders reich tritt dieses Gas auf, wenn das Wasser größere Mengen von Sulfaten (Gips) enthält. Sie bilden den Quellsboden bedeckende schneeweiße zierliche Netze. Warning erwähnt, daß besonders an der dänischen Küste, wo große Seegrasmengen verfaulen, sie massenhaft auftreten, derart, daß das Wasser auf weite Strecken rot gefärbt wird und der starke  $H_2S$ -Geruch die ganze Gegend belästigt. Ganz besonders sei auf die genauen Angaben, welche durch Figuren erläutert sind, über die Gattungen *Beggiatoa*, *Thiothrix*, sowie ferner über die farbigen, nicht fädigen und die roten Schwefelbakterien aufmerksam gemacht (p. 226—234), wie auch die Physiologie dieser Gruppe sehr eingehend behandelt ist.

Aus den Schlußfolgerungen über den durch diese Bakterien bewirkten Kreislauf des S ergibt sich, daß, von den Eiweißkörpern ausgehend, in welchen der S eine komplizierte, bis jetzt noch nicht genügend geklärte Verbindung eingeht, er seinen Kreislauf als Produkt eines abgeschlossenen Oxydationsprozesses, als Schwefelsäure, beendet, welche von den Pflanzen durch Vermittelung ihrer Wurzeln aufgenommen wird und in ihnen mit den anderen zusammen zum Wiederaufbau von Eiweißstoffen dient.

Rullmann (München).

**Kayser, E.**, Les levures, caractères morphologiques et physiologiques, applications de levures sélectionnées. 2<sup>e</sup> édition. Paris (Gauthier, Villard et Masson) 1905.

Die in den letzten Jahren gemachten neuen Entdeckungen über die Hefen, und besonders die Entdeckung von Buchners Zymase haben den Verf. zur Herausgabe einer neuen Auflage seines Buches bewogen.

Hinsichtlich der Morphologie stützt sich Verf. auf den Ursprung der Hefen und auf die diese Frage betreffenden Arbeiten von Jørgensen, Hansen, Klöcker und Schiønning. Die neueren Arbeiten über

die Struktur und die Befruchtung der Hefen werden besprochen. Ein weiteres Kapitel, mit zahlreichen Abbildungen, ist der Beschreibung der hauptsächlichsten Hefearten und der ganz jüngst von Hansen vorgeschlagenen Klassifikation der Hefen gewidmet. Die Theorie der Gärung und die Untersuchungen über die Zymase Buchners nehmen den meisten Raum in dem Buche ein. Guilliermond (Lyon).

**Buchner, Ed. und Antoni W.,** Weitere Versuche über die zellfreie Gärung. (Zeitschr. physiol. Chem. Bd. XLIV. 1905. p. 206—228).

Durch Einleiten von Sauerstoff bzw. Wasserstoff in Hefepreßsaft wird dessen Gärkraft nicht geschädigt. Alle Bemühungen, die Zymase von der Invertase zu trennen, scheiterten. Verff. haben außerdem die Angaben von Th. Bokorny (Chemikerzeitung. Bd. XXXVII. 1903. p. 1106) nachgeprüft, konnten aber bei gleicher Konzentration beider Zucker keine wesentlichen Unterschiede hinsichtlich der Vergärung zwischen Rohr- und Traubenzucker feststellen. Nimmt man dagegen solche Mengen, daß zwar der Rohrzucker, nicht aber der Traubenzucker ganz in Lösung geht, dann allerdings tritt, wie Bokorny beobachtet hat, mit Traubenzucker die Gärung rascher ein. In 66-proz. Rohrzuckerlösung trat mit Hefepreßsaft noch Invertierung ein.

Durch das Zerreiben von Dauerhefe tritt meistens eine vorübergehende Schädigung ihrer Gärkraft ein, gleichgültig ob die Dauerhefe nur mit reiner Zuckerlösung oder mit gezuckertem Hefepreßsaft, also einer Kolloidlösung übergossen wird.

Verff. haben im Anschluß an frühere Versuche die Einwirkung von Formaldehyd, Natriumfluorid, Chininchlorhydrat, Alkohol und Aceton auf die Gärkraft des Hefepreßsaftes geprüft. Durch Zugabe von 0,12 Proz. Formaldehyd betrug die Abnahme nur  $\frac{1}{5}$ , durch 0,24 Proz.  $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{5}$ . Natriumfluorid in Mengen von 0,5—2 Proz. wirkt außerordentlich schädigend auf die Wirkung der Zymase. Zusatz von 0,05 Proz. Chininchlorhydrat verstärkt in Uebereinstimmung mit den Angaben von O. Grigoriew in Beziehung auf Acetondauerhefe die Gärwirkung des Hefepreßsaftes. Bei Zusatz von 1 Proz. ist das Maximum der günstigen Wirkung schon wieder überschritten. Neuere Versuche lassen die schrittweise Abnahme der Gärkraft mit steigendem Zusatz von Aethylalkohol erkennen. Eine Begünstigung der Zymasewirkung durch 5 Proz. Aethylalkohol, wie sie O. Grigoriew beobachtet hat, konnte nicht nachgewiesen werden. Bei Zusatz von 10 bzw. 14 Proz. Alkohol geht die Gärwirkung auf  $\frac{1}{2}$  bzw.  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$  herab, bleibt aber immerhin noch deutlich nachweisbar.

Aceton wirkt auf den Preßsaft schädlicher als Alkohol.

H. Will (München).

**Wortmann,** Biologische Untersuchungen über die Abstiche der Weine. (Landw. Jahrbücher. 1905. Heft 5.)

Zu früher Abstich veranlaßt durch die Einwirkung des Luftsauerstoffes eine Oxydation von besonders aus faulen Trauben stammenden Weinbestandteilen, und kann so ein Braunwerden des Weines verursachen. Auch Nachgärung kann eintreten, und weiter wird die nützliche Einwirkung, welche ein nicht zu lange dauerndes Verbleiben des Weines auf dem Trube mit sich bringt, und die sich unter anderem in einer Säureverminderung äußern kann, fortfallen.

Allerdings kann dieser Rückgang an Säure, wenn der Wein zu lange mit dem Trube in Berührung bleibt, eine Wertsverminderung zur Folge haben, insofern der Säurecharakter gar zu sehr verloren geht. Weiter treten in der Hefe Fäulniserscheinungen ein, welche Trübungen und schlechten Geschmack, die sich bis zur Ungenießbarkeit des Weines zu steigern vermögen, hervorrufen können.

Nun stellen zwar die eben geschilderten Beeinflussungen Extreme dar, die verhältnismäßig selten sein werden. Indessen vermag doch schon eine um 8—14 Tage verschiedene Abstichzeit die Güte des Produkts recht erheblich verschieden zu gestalten. Dabei wird zur Zeit noch vorwiegend hierbei nach empirischen Regeln gehandelt, und bei der Verschiedenheit der Weine ist es schon für einen guten Küfermeister sehr schwer, den individuell richtigen Zeitpunkt auch nur für jeden normal vergorenen Wein zu finden.

In der nun folgenden, eingehenden Besprechung der früher wie jetzt zur Feststellung der Abstichszeit üblichen Verfahren erwähnt Verf. die Methode von Nessler, die allerdings seiner Meinung nach nur einen allgemeinen Anhalt gibt, und nicht ausreicht, da sie nur feststellt, ob der Wein fertig vergoren hat. Je nach der Art ist der Wein aber vor oder nach völliger Vergärung abzusteichen.

Einen wirklich sicheren Aufschluß über die geeignete Zeit für den Abstich vermag uns nur die wissenschaftliche Untersuchung biologischer Art, unter Zuhilfenahme der Chemie, zu gewähren, eine Untersuchung, die sich natürlich auf den Trub erstrecken muß. Von Bedeutung ist hierbei unter anderem der durch wässrige Jodlösung unter dem Mikroskop festzustellende Glykogengehalt, da dieser Nährstoff gegen Ende der Gärung von der Hefe wieder verbraucht, und zum größten Teil in Alkohol und Kohlensäure umgewandelt wird, auch wohl für die Glycerinbildung und Anreicherung des Weines mit Bukettstoffen von Bedeutung ist.

Die mikroskopische Beobachtung des Glykogengehaltes wird es also ermöglichen, den Abstich bis zu dem Moment hinauszuschieben, wo die Hefe vorteilhaft wirkende Stoffe an den Wein nicht mehr abzugeben hat, da ihr Glykogengehalt verbraucht ist, aber auch noch nicht abgestorben und so ein Nährboden für ungünstige Zersetzungen geworden ist.

Es folgt nun Aufzählung und Beschreibung einer ganzen Reihe von auf dieser Grundlage angestellten Versuchen.

Aus ihnen ergab sich zunächst die Notwendigkeit, nicht mit dem Absteichen zu warten, bis der mikroskopische Befund kein Glykogen in sämtlichen Trubhefezellen mehr anzeigt. Infolge des ungleichen Alters der Hefe nämlich wird dann ein Teil der älteren Zellen schon der Zersetzung anheimgefallen sein; als geeigneter Zeitpunkt wurde durch Laboratoriumsversuche vielmehr der Moment festgestellt, in welchem noch ein Drittel der Zellen glykogenhaltig ist, und nicht zuviel alte, hungernde und in Zersetzung begriffene Hefezellen vorhanden sind.

Weitere, nunmehr mit verschiedenartigen Weinen in der Praxis durchgeführte Untersuchungen, bezüglich deren auf die umfangreiche Originalarbeit verwiesen werden muß, führten zu dem Ergebnis, daß es durch die mikroskopische Untersuchung der Trubhefe nicht nur möglich ist, die Zeit für den Abstich eines Weines leicht und vor allen Dingen sicher zu bestimmen, sondern daß der auf diesem Wege gefundene Zeitpunkt des Abstiches für die weitere Entwicklung und für die Qualität des Weines sich als vorteilhafter erwiesen hat, als der von der Praxis auf Grund der Erfahrung und der Kostprobe gewonnene. Die Aus-

führung der mikroskopischen Kontrolle ist dabei eine sehr einfache, und Verf. gibt hierüber nähere Ausführungen für die Praxis. Wichtig ist hierbei, daß wirklich Hefezellen des auf dem Boden des Fasses ruhenden Trubes, nicht aber im Weine noch schwebende, untersucht werden, da letztere, wenigstens im allgemeinen, minder gut ernährte und unterwertige Exemplare darstellen.

Weiter sind bezüglich der biologischen Beurteilung des Trubes die Weine zu unterscheiden

in solche, in denen der Zucker zur vollständigen Vergärung gelangt, und

in solche, die auch nach vollkommener Vergärung noch Zucker enthalten.

Für beide werden Sondermaßregeln gegeben, welche für die letztgenannten Weine von den bisher besprochenen allgemeinen Gesichtspunkten unter anderem dahin abweichen, daß für sie der Zeitpunkt des Abstechens schon dann gekommen ist, wenn ein Teil der Hefezellen stark in den Zustand des Hungerns überging, und dadurch das Eintreten von Zersetzungserscheinungen befürchten läßt.

Wichtig ist bei diesen Weinen auch die chemische Untersuchung zur Feststellung des Vergärungsgrades. Sie darf indessen nicht maßgebend für den Abstich sein, sondern diese Bedeutung kommt nur dem mikroskopischen Befund der Trubhefe zu. Bei eventuell noch nicht genügend fortgeschrittener Vergärung kann dem umgefüllten Wein dann noch eine genügende Menge gärkräftiger Reinhefe zugesetzt werden.

Ehrenberg (Breslau).

**v. Szontagh, Felix**, Zur Biochemie der Milch. (Jahrbuch für Kinderheilkunde. III. F. Bd. XII. Heft 5. p. 715.)

Aus den Untersuchungen ist hervorzuheben: Durch die mit Pepsinsalzsäure ausgeführten Verdauungsversuche wurde festgestellt, daß die Frauen-, Esel- und Stutenmilch ganz verdaulich ist, während das Kasein in der Kuh-, Büffel- und Ziegenmilch unter den gleichen Versuchsbedingungen nur bis auf 8, resp. 14 und 15 Proz. löslich ist. Die Frauen-, Esel- und Stutenmilch besitzt nicht nur einen absolut geringeren Kaseingehalt als die Kuh-, Ziegen- und Büffelmilch, sondern es entfällt auch ein geringer Teil des Gesamt-N auf das Kasein. Auf Säure fällt das Kasein in der Frauen-, Esel- und Stutenmilch in feinen, in der Kuh-, Ziegen- und Büffelmilch in großen, groben Flocken aus. In all diesen Milcharten fand v. S. kein Pepton, Pepsin, Trypsin und kein glykolytisches Ferment, hingegen in allen ein stärkeverzuckerndes Enzym.

Albert Uffenheimer (München).

**Grixoni, G.**, Nuovo latte fermentato facile a prepararsi nei servizi ospedalieri. „Il Giorddu.“ (Annali della medic. navale. Vol. II. 1905. Fasc. 3).

Die interessante Untersuchung des Verf. bezieht sich auf eine fermentierte Milch, die die Schäfer einiger Gebirgszüge Sardinien seit undenklichen Zeiten, besonders im Sommer und Herbst verwenden, und die eben wegen ihrer organolektischen, nutritiven, therapeutischen und besonders die Verdauung fördernden und anreizenden Eigenschaften der natürlichen Milch vorgezogen wird.

Ihre Vorzüge sind in jenen Gegenden derart absolut anerkannt, daß sie mit einem substantivierten Adjektiv mezzoradu (verbesserte Milch)



oder aber mit einem wahrscheinlich dem Osten entstammenden Worte „Gioddu“ bezeichnet wird.

Diese verbesserte Milch wird gewöhnlich Tag für Tag in der Familie frisch zubereitet. Ein Löffel voll Gioddu wird in einer 3—4-fachen Menge vorher gekochten und dann bis 31—35° erkalteten Milch aufgelöst. Danach wird das Ganze vorsichtig mit der zu fermentierenden Milch vermennt und an einen besonders dazu eingerichteten warmen Ort gestellt.

Absolute Ruhe und eine Temperatur von 20—25° sind für das Zustandekommen eines guten Produktes absolut erforderlich. Die Schäfer verwenden dazu Gefäße aus Kork oder Ton, die sie im Winter mit erwärmten Tüchern bedecken oder aber vorsichtig auf die warme Asche des Feuerorts aufstellen. In den Sommermonaten reicht die Temperatur des Raumes schon vollständig zur Fermentation aus. Hat sich dann die Milch in eine gleichmäßige feinste, mehr oder weniger konsistente Masse verwandelt, so stellt man das Gefäß in kaltes Wasser, um eine zu starke Versäuerung des Gioddu und seine Entkoagulierung zu verlangsamen.

Das Gioddu kann man mit Vollmilch oder entrahmter Milch sowohl der Kuh wie auch des Schafes oder der Ziege zubereiten. Im Sommer kann man auch gewässerte Milch verwenden. Doch erhält man da freilich ein weniger konsistentes und weniger nahrhaftes Produkt, das sich überdies rascher verflüssigt, wenn die Masse erst angegriffen ist.

Im allgemeinen wird gekochte Milch verwendet, doch liefert auch die nicht gekochte ein vorzügliches Gioddu.

Verf. hat aus diesem Gioddu 2 Keime abgesondert, einen Hefepilz (*Sacch. sardous*) und einen *Bacillus* (*B. sardous*).

Der *Saccharomyces sardous* ist ein absoluter Aërobe und gewöhnlich oval; nur die jungen Zellen sind rund und erreichen einen Maximaldiameter von 3  $\mu$ . Die ausgewachsenen dagegen messen in der Maximalachse 8  $\mu$ . Die Vermehrung findet durch Knospung statt. Der Hefepilz hat eine sehr deutliche doppelte Kontur und einen körnigen Zentralteil, der die Farbstoffe, besonders das Löfflersche Alkalinblau, stark aufnimmt. Die Ziehlsche und Nicollsche Flüssigkeit färben das Ganze stark ungleichmäßig, gestatten also keine Differenzierung der verschiedenen Zellenteile. Die Innenstruktur der Zelle wird besonders gut mit der Romanowskyschen Methode erkannt. Dabei färbt sich das Protoplasma blau und die chromatische Substanz des Kernes in gleichmäßiges Rot. Es fehlt jede Spur von Nukleol oder einer Kernsubstanz, die blau werden müßte. Er färbt sich nicht nach Gram.

In den Nährböden ohne Zucker löst sich die Tochterknospe rasch von der Mutter ab. In den Nährböden mit Zucker wird die Tochterknospe ebenso groß wie die Mutter, ohne sich von ihr zu trennen, wonach dann beide am freien Ende eine neue Knospe ausstoßen, die ihrerseits wiederum andere erzeugen und so Fäden herstellen, deren Teile deutlich unterscheidbar und individualisiert sind und sich loslösen, sobald die Fermentation stürmisch wird.

Die auf 27° im Brutofen gehaltenen Kulturen erfahren einen raschen Entartungsprozeß, der auf eine übermäßige und rasche Vervielfältigung folgt. In den auf 20—25° gehaltenen Kulturen beobachtet man deutlich die Bildung von Ascosporen. Ihr Wachstum ist nicht so rasch, dafür aber anhaltender, wobei die Zellen längere Zeit hindurch färbbar bleiben.

Weder in der Milch noch in den zuckerhaltigen Nährböden konnte Verf. jemals Sporen feststellen, dagegen fand er solche in den Peptonbouillons, wo sich ein Schleier gebildet hatte und die Wände des Röhrchens weit oberhalb der Oberfläche der Flüssigkeit mit zahllosen, milchweißen, vereinzelt liegenden, verschieden großen Pünktchen bedeckt waren, die das Bild einer gegen die Wände gespritzten und getrockneten, milchigen Substanz boten. Diese Kolonievermehrung des Hefepilzes wurde auch in den ganz unbeweglich gehaltenen Röhrchen beobachtet.

Der *Bacillus sardous* wächst nach Verf. in der Milch rasch und findet sich da paarweise, nur selten in Ketten von 6–8 Elementen. Mit Löfflerscher Flüssigkeit gefärbt, nehmen einige Teile des Bacillus, und besonders die in der Nähe der Pole liegenden, die Farbstoffe intensiv auf. Ist die Kultur alt und erscheint der Bacillus blaß, so treten diese Punkte noch stärker hervor. Die anderen Färbemethoden lassen die Baueinheiten nicht hervortreten.

Allein entwickelt sich der Bacillus in den gewöhnlichen sauren, neutralen oder alkalischen Nährböden weder aërob noch anaërob. Die mit den verschiedensten Nährböden in dieser Richtung vom Verf. während 2 Jahren angestellten Versuche blieben stets erfolglos. Diese Eigentümlichkeit unseres Bacillus findet man auch bei anderen, synthetische Fermentation hervorruhenden Keimen. Duclaux vermutet sogar, daß einer dieser noch nicht gezüchteten Bacillen den physiologischen Schlüssel des Kefirs liefern könne.

Wird dieser Bacillus zusammen mit dem Hefepilz in Gelatine gebracht, so wächst ersterer äußerst langsam. Bei schwacher Vergrößerung sieht man ihn erst nach 6–7 Tagen, wenn der Hefepilz schon kräftig gewachsen ist und das Substrat einen stark säuerlichen Geruch abgibt und wahrscheinlich schon bedeutende chemische Veränderungen erfahren hat. In diesem Falle kann man fast immer in der Nähe der Hefepilzkolonien kleine feinste, mit unregelmäßigen Umrissen versehene Kolonien wahrnehmen, von denen nach allen Richtungen hin zahlreiche feinste, schlangenförmige Fäden auslaufen, die aus Streptobacillen bestehen.

In Bouillon liefert der Bacillus immer zusammen mit dem Hefepilz sehr lange gewundene und von jenen leicht färbbaren Körnchen bedeckte Fäden, denen Verf. im Gioddu begegnete. Seine Beweglichkeit tritt sehr spät auf, wenn er isoliert oder paarweise vorhanden ist, unbeweglich dagegen ist er, sobald er sich in langen Ketten vorfindet.

Trotz wiederholter Untersuchungen wurden vom Verf. im Gioddu niemals andere Keime vorgefunden, die als Erzeuger jener besonderen Veränderung gelten könnten. Die Kulturversuche bestätigen diesen Befund vollauf. Es erlaubt also das Gioddu keinem der gewöhnlich in der Luft vorhandenen Saprophyten eine Existenz.

Verf. hat außerdem die chemischen Eigenschaften des Gioddu eingehend studiert und empfiehlt es mit vollem Recht.

Bertarelli (Turin).

**Falke**, Die Braunheubereitung. (Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft. Heft 111.)

Verf. berichtet eingehend über die in der landwirtschaftlichen Praxis Deutschlands verhältnismäßig selten üblichen Methoden der auf Selbsterhitzung beruhenden Braunheubereitung, von denen nur das in Schleswig-Holstein übliche Schweißdiemenverfahren wirtschaftlichen Wert be-

sitzt. Bezüglich bakteriologisch bedeutungsvoller Vorgänge bei dem in Rede stehenden Vorgang, die uns ja hier allein interessieren, wurde festgestellt, daß die Bakterienflora im Innern des Braunheudiemens stickstofffreie Stoffe in erheblichem Maße angreift. Denn gerade zum Zustandekommen der Selbsterhitzung sind reichlich leicht oxydierbare Stoffe erforderlich. Es zeigte sich so ein beträchtlicher Verbrauch von stickstofffreien Extraktstoffen, aber ebenso auch an Fett, das sogar verhältnismäßig noch mehr in Anspruch genommen wurde. Was die stickstoffhaltigen Stoffe anbelangt, so bemächtigt sich die Bakterienflora mit großer Vorliebe zuerst der leichtlöslichen Nichteiweißverbindungen und zieht erst zur Deckung weiteren Bedarfes den Stickstoff des Eiweißes heran. Ist Nichteiweiß weniger reichlich vorhanden, so greifen die Bakterien den Eiweißstickstoff stärker an; aber auch hier wird immer dem Stickstoff des Nichteiweißes der Vorzug gegeben und von ihm stets relativ sehr viel mehr verbraucht, als vom Eiweißstickstoff.

(Dies entspricht der neuerdings in der Tierernährungslehre öfters betonten eiweißschützenden Wirkung der Nichteiweißstoffe bei der Darm- und Pansengärung.)  
Ehrenberg (Breslau).

**Maire, R.,** Recherches cytologiques sur quelques ascomycètes. (Annales mycologici. 1905. April.)

Maire stellt fest, daß bei *Galactinia succosa*, *Peziza vesiculosa* und *Peltigera canina* 4 Chromosomen vorhanden sind; im Gegensatz dazu hält er die Zahl von 8 Chromosomen bei *Anaptychia ciliaris* für wahrscheinlich. Die mitotischen Vorgänge sind besonders leicht bei *G. succosa* zu beobachten: Die erste Teilung unterscheidet sich sehr deutlich von den beiden folgenden. Der Kern bildet zuerst lose Spindeln, dann sehr charakteristische aufeinanderfolgende Stadien: Das Chromatin löst sich zuerst in Form von bisweilen sehr zahlreichen Protochromosomen von dem Knoten los; der Verf. vergleicht sie mit den Gamosomen Strasburgers; diese ballen sich etwas vor dem Auftreten des achromatischen Bündels und des Centrosomen zu 4 Chromosomen zusammen; diese beiden Bildungen sind intranukleolären Ursprungs. Die Sterne dagegen sind sowohl nukleolären als cytoplasmatischen Ursprungs. In der Metaphase unterziehen sich die Chromosomen nacheinander zwei longitudinalen Teilungen; die erste ist vollständig und ergibt 8 Chromosomen, die sich in der ganzen Umgebung des Bündels verteilen; die letzteren teilen sich dann noch ein zweites Mal; gewöhnlich ist diese zweite Teilung vollständig, bisweilen bleibt sie aber unvollendet, und die nicht völlig geteilten Chromosomen nehmen die Gestalt eines aus zwei an ihren Enden vereinigten Chromosomen gebildeten V an. In der Anaphase sieht man an jedem Pol 8 Chromosomen, oder auch nur eine zwischen 4 und 8 schwankende Zahl, je nachdem die zweite Teilung vollständig oder unvollständig gewesen ist.

Bei der zweiten Mitose beobachtet man zuerst 8 Chromosomen, die sich in der Äquatorialplatte zu 4 Chromosomen anordnen, die sich in der Metaphase einer Teilung unterziehen, wodurch sie sich in 8 Tochterchromosomen spalten, in der Anaphase findet man 4 Chromosomen an jedem Pol. Bei der dritten Teilung erscheinen die Chromosomen unmittelbar in der Vierzahl in der Prophase und man sieht in der Anaphase 4 an jedem Pol.

Maire schließt aus dem Vorhandensein von aufeinanderfolgenden Stadien und von zwei nacheinander erfolgenden Spaltungen von Chromo-

somen bei der ersten Mitose, daß man die Teilungen auf eine Stufe stellen könne mit den geschlechtlichen Mitosen der Phanerogamen: die erste Mitose ist demnach heterotypisch, die zweite homotypisch und die dritte typisch. Nur bei den Ascomyceten ist die zweite Spaltung der Chromosomen fast immer vollständig, während sie bei den Mitosen der Phanerogamen immer unvollendet bleibt.

Dieselben Phänomene beobachtet er auch bei anderen Arten.

Beauverie (Lyon).

**Guilliermond, A.**, Remarques sur la karyokinèse des ascomycètes. (Annales mycologiques. Juillet 1905.)

Maire hatte in einer früheren Arbeit festgestellt, daß bei einigen Ascomyceten (unter anderen *Galactinia succosa* und *Pustularia vesiculosa*) die erste Mitose der Mutterzellen des Schlauches eine heterotypische Mitose ist. Die Zahl der Chromosomen bei diesen beiden Arten ist nach Maire vier. Der chromatische Knoten bildet etwas vor der ersten Mitose aufeinanderfolgende Bilder; dann löst sich das chromatische Netz in verschieden zahlreiche Granulationen auf, die Protochromosomen, die der Verf. mit den Gamosomen Strasburgers vergleicht. Die Protochromosomen ordnen sich in der Äquatorialplatte zu vier endgültigen Chromosomen an; dann unterziehen sich die vier Chromosomen nacheinander zwei Teilungen, wodurch sich ihre Zahl auf 16 erhöht; sie liegen in der Anaphase in zwei Polplatten zu je acht Chromosomen; indes bleibt die zweite Teilung der Chromosomen oft unvollendet, und die beiden Tochterchromosomen bilden ein V, dessen beide Schenkel abgerundet sind; ebenso ist die Zahl der Chromosomen an jeder Polplatte nicht konstant.

Die erste Mitose ist also nach Maire heterotypisch, die zweite homotypisch und die dritte typisch.

Guilliermond setzt seine früheren Studien über die Karyokinese der Ascomyceten fort, um die Beobachtungen von Maire zu kontrollieren. Er beobachtet vier Arten: *Pustularia vesiculosa*, *Peziza rutilans*, *Peziza Catinus*, *Galactinia succosa*.

Bei *P. vesiculosa* beobachtet er in der Prophase die Bildung von ungefähr acht Chromosomen; Protochromosomen findet er nicht. Die acht Chromosomen teilen sich in der Metaphase, um zwei Polplatten von 16 Chromosomen zu bilden. Es finden also nicht zwei Teilungen nacheinander statt, wie Maire beschreibt, und überdies trifft man acht Chromosomen an und nicht vier. Die zwei folgenden Teilungen vollziehen sich in derselben Weise.

Bei *P. rutilans* beobachtete Guilliermond am Anfange der Prophase der ersten Mitose sehr charakteristische aufeinanderfolgende Stadien; dann zersetzt sich das chromatische Netz und man sieht 16 Chromosomen auftreten, die die Form eines V haben. Die 16 Chromosomen unterliegen in der Metaphase einer einzigen Teilung. Diese Teilung bewerkstelligt sich longitudinal: man hat zuerst ein Knäuel, dann zwei V, deren je eines sich nach jedem Pol hin wendet. In der Anaphase findet man zwei Polkronen zu je 16 Chromosomen. Die folgenden Teilungen unterscheiden sich etwas von den vorhergehenden: die als V angeordneten Chromosomen scheinen eine transversale Teilung einzugehen, die in einer einfachen Trennung der beiden Schenkel des V besteht. Der Verf. hält dafür, daß die erste Mitose von *P. rutilans* heterotypisch ist; wenngleich er es nicht beweisen kann, nimmt er an, daß die V-Form,

die die Chromosomen am Anfang der ersten Mitose bilden, von einer ersten überstürzten, unvollendeten, longitudinalen Teilung herrührt. Die longitudinale Teilung des V, die sich in der Metaphase vollzieht, wäre also eine zweite Teilung, die neue V bildet. Diese doppelte, unvollständige Teilung würde bei der zweiten Mitose vollständig werden, wo, wie der Verf. vermutet, die Teilung der V-förmigen Chromosomen einfach in einer Verdoppelung der beiden Schenkel des V besteht. Die zweite Mitose wäre also homotypisch.

Analoge Erscheinungen hat Guilliermond bei den Mitosen von *P. Catinus* beobachtet. Bei dieser Art sieht man von Anfang der Prophase an die Bildung von ungefähr 16 longitudinal verdoppelten Chromosomen, deren Schenkel sich jedoch nach ihren beiden Enden hin anordnen; die Chromosomen haben also O-Form. Sie ziehen sich dann in der Äquatorialplatte zusammen und nehmen die Gestalt von Granulis oder oft Vs an; dann in der Metaphase haben die Chromosomen das Aussehen von Knäueln, deren beide V sich trennen und je nach einem Pol zu wenden, um in der Anaphase zwei Polkronen von je 16 Chromosomen zu bilden. Die folgenden Teilungen scheinen sich in derselben Weise zu vollziehen, aber die Spaltung der Chromosomen hat nicht beobachtet werden können.

Guilliermond betrachtet die erste Mitose von *P. Catinus* als heterotypisch: er hält dafür, daß die O-förmigen Chromosomen im Anfange der Prophase von einer Verdoppelung herrühren, die sich in der Äquatorialplatte vollzieht, wo die Chromosomen häufig V-Form haben, da die V eine zweite longitudinale Teilung eingehen, die die Knäuel der Metaphase und endlich die V der Anaphase ergibt.

Bei *G. succosa* schließt sich der Verf. der Ansicht Maires an: er beobachtete Protochromosomen in der Prophase, dann vier endgültige Chromosomen, die sich in der Metaphase zweimal verdoppeln, um die zwei Polplatten zu acht Chromosomen in der Anaphase zu bilden. Die folgenden Teilungen schließen in der Anaphase nur vier Chromosomen an jedem Pol ein.

Wie Maire, stellt auch Guilliermond fest, daß die Bildung der Centrosomen, des achromatischen Gerüsts und eines Teiles der Sterne intranukleolären Ursprungs ist. Beauverie (Lyon).

**Guilliermond, A.,** Contribution à l'étude cytologique des cyanophycées. (Comptes rendus de l'académie des sciences. Août 1905.)

Die Frage über den Kern der Cyanophyceen ist noch sehr umstritten: Bütschli und kürzlich Wager und Olive geben die Anwesenheit eines dem Kerne homologen zentralen Körpers zu, aber Massart und ganz kürzlich Fischer leugnen die Existenz eines Kernes und betrachten den zentralen Körper als Cytoplasma, das mit geformten und färbbaren Reservestoffen gefüllt ist.

Verf. greift diese Frage bei verschiedenen Arten wieder auf: *Chormidium favosum*, *Nostoc commune* und *verrucosum*, *Rivularia bullata*. Er beobachtet bei diesen Arten eine parietale Schale von Cytoplasma, das wenig färbbar ist, und eine zentrale Partie (zentralen Körper Bütschlis), die in den chromatischen Netzen der Kerne durchaus analoges Reticulum einschließt. Dieses Reticulum zeigt verschiedenes Aussehen, je nach dem Alter der Zelle. Es teilt sich bei der Teilung der Zelle in einer Weise, die eher an eine Amitose als an eine

Mitose erinnert, obwohl gewisse Autoren daran denken, die eine wohlcharakterisierte Karyokinese beschrieben haben.

Bei den alten Zellen verdichtet sich das chromatische Reticulum zu einer kleinen sphärischen Masse in jeder Zelle, während sich der Rest der Zelle vakuolisiert. In diesem Stadium ähnelt die Struktur der Cyanophyceen der der anderen Pflanzen, besonders der Pilze, und die kleine, aus der Verdichtung des chromatischen Netzes hervorgehende Masse bietet bis zu einem gewissen Grade das Bild eines wirklichen Kernes. Diese Verdichtung des Kernes ist besonders deutlich bei *R. bullata*.

Außer dem chromatischen Reticulum finden sich in den Zellen Sekretionskörner verschiedener Art: 1) Dicke Kugeln, schwer färbbar, im zentralen Körper; 2) metachromatische Körper, die immer in dem zentralen Körper liegen und von dem chromatischen Netz selbst produziert zu sein scheinen; diese Körper sind denen der Hefen analog; 3) Granulationen, die in dem parietalen Cytoplasma liegen und den Cyanophycinkörpern der Autoren entsprechen.

Verf. schließt daraus, daß die Cyanophyceen eine besondere Struktur besitzen: es gibt keinen wirklichen Kern, aber ein chromatisches Reticulum, das den Kern ersetzt und dem entspricht, was die Zoologen, unter anderen R. Hertwig, als chromidiales System bezeichnen.

J. Beauverie (Lyon).

**Noël, B.**, *Nouvelles espèces d'endophytes d'Orchidées*. (Compt. rend. academ. des sciences. Paris. T. CXL. 1905. p. 1272).

Verf. isolierte von den Wurzeln der Pflanzen *Cattleya*, *Phalaenopsis* und *Odontoglossum* Pilze. Bei ihrer Gegenwart keimen die Samen dieser Pflanzen schnell und leicht. Die Pilze wurden genauer untersucht und lassen sich unterscheiden. Der Pilz auf den Wurzeln von *Phalaenopsis* ist gekennzeichnet durch seine Fähigkeit, Sklerotien zu bilden.

Matuschek (Reichenberg).

**Sorauer, P.**, *Handbuch der Pflanzenkrankheiten*. 3. vollständig neubearbeitete Auflage in Gemeinschaft mit **G. Lindau** und **L. Reh** herausgegeben. Berlin (P. Parey). Lieferung 1 (Bd. I. Bg. 1—7) und Lieferung 2 (Bd. II. Bg. 1—6).

Das Erscheinen einer neuen Auflage von Sorauers *Handbuch der Pflanzenkrankheiten* ist an sich schon eine freudig zu begrüßende Tatsache, besonders aber zu einer Zeit, in der die behandelte Disziplin so rasche und kräftige Fortschritte macht, wie in der gegenwärtigen. Dies Fortschreiten der Pathologie fordert freilich auch ein rasches Erscheinen des als Lieferungswerk beginnenden Buches, da sonst zu leicht eine Ungleichmäßigkeit in den einzelnen Teilen sich zeigen könnte.

Gegen die vorhergehenden Auflagen ist insofern eine eingreifende Aenderung eingetreten, als der Phytopathologe Sorauer als Mitarbeiter den Botaniker Lindau und den Zoologen Reh herangezogen hat. Es soll nunmehr das Buch 3-teilig und damit 3-bändig werden, und zwar wird S. im I. Bande neben einer allgemeinen Einleitung, die „das Wesen der Krankheit“ umfaßt und einen geschichtlichen Ueberblick über die Entwicklung der Pathologie enthält, die nicht parasitären Krankheiten behandeln. Im II. Bande folgen, von Lindau bearbeitet, die pilzparasitären Krankheiten und im III. Bande aus der Feder Rehs die durch Tiere hervorgerufenen Beschädigungen und Veränderungen.

Die vorliegende Lieferung 1 umfaßt die ersten 7 Bogen des I. Bandes.

Der 1. Abschnitt: „Das Wesen der Krankheit“ ist eingeteilt in die Abteilungen: Umgrenzung des Krankheitsbegriffes, Entstehung der Krankheit, die Beziehung der Pflanze zu ihrer Umgebung, die parasitären Krankheiten, Epidemien, künstliche Immunisierung und innere Therapie, Prädisposition, Degeneration. Dieser Abschnitt enthält gewissermaßen ein Glaubensbekenntnis Sorauers, dessen Mittelpunkt durch die Lehre von der „Prädisposition“ gekennzeichnet wird. Das Bestreben, diese Prädisposition in den Vordergrund zu stellen, läßt sich in den meisten der hier vereinigten Abschnitte erkennen. Bei dieser Gelegenheit mag darauf hingewiesen werden, daß die Prädisposition schon in älteren phytopathologischen Schriften eine Rolle spielt, so z. B. bei Martius, Die Kartoffelepidemie der letzten Jahre (München 1842), eine Arbeit, die einen ganzen Abschnitt „Die Prädisposition der Kartoffel“ enthält. Unter dem Einflusse der Fortschritte unserer Kenntnis der parasitären Pilze war dann diese Richtung in den Hintergrund gedrängt worden und zeitweise war es fast allein Sorauer, der an dem Vorhandensein dieser Erscheinung festhielt. Heute dürfte wohl kaum mehr an einer in gewissen Fällen vorliegenden Prädisposition gezweifelt werden, es ist aber höchste Zeit, daß in dieser Richtung exakte Forschungen mehr wie bisher geboten werden, wenn nicht die ganze Lehre ins Stocken geraten soll. Denn bis jetzt ist Prädisposition nicht viel mehr als ein Wort, das eine Summe verschiedenartigster Tatsachen umfaßt, die man in ihren Einzelheiten nur in ganz vereinzelten Fällen kennt.

Der 2. Abschnitt der Einleitung ist betitelt: „Geschichtliches“; in Wirklichkeit enthält er einen abgerundeten Abriß der Entwicklung unserer Kenntnisse der Pflanzenkrankheiten und eine Uebersicht über die Literatur. Auf die Einzelheiten dieses Abschnittes einzugehen, kann ich mir hier wohl ersparen, da jeder, der sich mit der Geschichte der Pathologie befaßt, doch nicht des Originales entraten kann. Nur möchte ich erwähnen, daß es mir gewagt erscheint, alles das, was „die Alten“ unter Brand verstanden, auf Witterungseinflüsse zurückzuführen, da die Kenntnis parasitärer Krankheiten damals noch fehlte, dürfte auch manche Pilzkrankheit in dem allgemeinen Ausdrucke gefaßt sein. (Ein lehrreiches Beispiel in dieser Beziehung ist der „Rote Brenner des Weinstockes“ !)

Nach diesen beiden einleitenden Abschnitten beginnt der „Spezielle Teil“ mit den „Krankheiten durch ungünstige Bodenverhältnisse“. Es ist zunächst die Lage des Bodens, die in den Kreis der Betrachtungen gezogen ist. Soweit es sich dabei um den Einfluß der Erhebung über den Meeresspiegel auf die habituelle Aenderung der Pflanzen handelt, gehören die Tatsachen mehr der allgemeinen Oekologie als der Pathologie an; trotzdem ist es von Vorteil, diese allgemeineren Gesichtspunkte auch in einem Handbuch der Pathologie wiederzugeben. Als spezielle Erkrankungen, die mit der Erhebung des Standortes über dem Meeresspiegel in Verbindung gebracht werden, sind „der Rückgang in der Kultur der Lärche“ und die „Mißerfolge bei unseren Tropenkulturen“ herangezogen.

Beide Beispiele dürften aber nicht besonders gut in diesem Abschnitte untergebracht worden sein, denn es ist wohl mehr das Zusammenwirken verschiedenster Umstände als die Erhebung über den Meeresspiegel, welches die beiden Erscheinungen hervorruft. Der nun folgende

Abschnitt: „Neigung der Bodenoberfläche“ ist in diesem 1. Heft noch nicht abgeschlossen und werde ich daher später darauf zurückkommen.

Die 2. Lieferung erhält die ersten 6 Bogen des von Lindau bearbeiteten Teiles. Da die Myxomyceten und Schizomyceten in diesem Heft vollständig abgeschlossen sind, gewährt dasselbe gleich einen Einblick in die Art, wie Lindau die Bearbeitung seines Teiles auffaßt. Während Sorauer den Hauptwert darauf legt, seine Anschauungen wiederzugeben, hat Lindau das Bestreben, die Literatur möglichst vollständig zu verarbeiten; hie und da ist ein Hinweis auf frühere Sorauer'sche Arbeiten eingetragen. Bei den Myxomyceten wird *Plasmодиophora Brassicae* einerseits und ungenau bekannte und zweifelhafte, durch Schleimpilze hervorgerufene Krankheiten andererseits behandelt. Bei letzteren merkwürdigerweise auch die Wurzelknöllchen der Erlen, Eläagnaceen und Myricaceen.

Die durch Spaltpilze hervorgerufenen Krankheiten sind nach den Pflanzen oder Pflanzengruppen, die durch sie geschädigt werden, eingeteilt. Die einschlägige Literatur, besonders auch die amerikanische, ist ausgiebig benutzt. Leider aber ist die Verarbeitung der Literatur zu wenig kritisch durchgeführt, so daß sich Wesentliches und Unwesentliches, Richtiges und Unrichtiges sich nicht gegeneinander abhebt. Jedenfalls ist dieser Abschnitt aber zur Zeit noch einer der schwierigsten und die darin niedergelegten Erkenntnisse dürften in den nächsten Jahren erst nach und nach zu einer gewissen Stabilität kommen.

Appel (Dahlem).

**Hollrung**, Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten. Unter Mitwirkung von Fabricius-München, Küster-Halle, Reuter-Helsingfors, Stift-Wien, Tarrach-Halle und Zang-Geisenheim. Bd. VII: Das Jahr 1904. Berlin (P. Parey) 1905. 15 M.

Mit erfreulicher Präzision ist der VII. Band des Hollrungschen Jahresberichtes erschienen. Wenn man bedenkt, was es heißt, annähernd 2000 Literaturnummern in so kurzer Zeit zu verarbeiten, so wird man dieser Schnelligkeit im Erscheinen seine Anerkennung nicht versagen.

Im großen und ganzen schließt sich dieser Band sowohl bezüglich des Inhalts wie der Anordnung dem vorhergehenden an, und entspricht damit den Wünschen, die aus den verschiedensten Interessentenkreisen geäußert worden sind. Noch ausgiebiger wie früher sind auch die selteneren Erscheinungen referiert worden, so daß die nur mit dem Titel angeführten Literaturnachweise nur noch einen kleinen Teil der benutzten Arbeiten ausmachen.

Appel (Dahlem).

**Thaer**, Die landwirtschaftlichen Unkräuter. Farbige Abbildung, Beschreibung und Vertilgung derselben. 3. durchgesehene Auflage. 24 Farbendrucktafeln nebst Text. Berlin (P. Parey) 1905. 4 M.

Wie schon aus dem gemeinsamen Vorwort des Herausgebers und Verlegers hervorgeht, hat die vorliegende 3. Auflage gegen die vorhergehende wesentliche Aenderungen nicht erfahren. Da das Buch in weiten Kreisen, besonders auch denen der Praktiker, allgemein bekannt ist, darf von einer eingehenden Besprechung hier abgesehen werden. Für eine spätere Auflage würde es sich empfehlen, noch einige weitere Unkräuter (*Lolium temulentum*, *Rumex crispus* u. a. m.) aufzu-



nehmen und auch den neueren Erfahrungen (Eisenvitriol) Rechnung zu tragen. Die Tafeln sind faßt ausnahmslos gut, so daß das Buch zur Verbreitung der Kenntnisse unserer Unkräuter wohl geeignet erscheint.

Appel (Dahlem).

**Gautier, L.**, Sur la biologie du *Melampyrum pratense*. (Compt. rendus de l'acad. des sciences. Paris. T. CXL. 1905. p. 1414—1416).

Die Biologie von *Melampyrum pratense* ist noch wenig bekannt. Der Verf. hat bei sorgfältigem Studium der unterirdischen Organe gefunden, daß dieser Halbparasit humusreichen Boden bevorzugt, wo er die humusbewohnenden Pilze aufsucht. Seine Haustorien heften sich mit Vorliebe an den Wurzeln der Buche fest, verbinden sich innig mit den Mykorrhizen des Baumes und ziehen so Nutzen aus diesem mächtigen Absorptionsapparat. Ein fetter, mit Hyphen reichlich versehener Boden, die Nachbarschaft von Buchen oder einer anderen mit Mykorrhizen versehenen Baumart müssen demnach als Faktoren angesehen werden, welche die parasitären Gewohnheiten von *Melampyrum pratense* begünstigen und die Wahl seines Aufenthaltsortes rechtfertigen.

Houard (Paris).

**Guttenberg, Hermann Ritter v.**, Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilzgallen. Mit 4 lithographischen Tafeln. Leipzig (Wilh. Engelmann) 1905. 2,60 M.

Während bisher die Literatur über Pilzgallen nur rein anatomische Untersuchungen enthält, die die erkrankten Gewebe mit den normalen vergleichen oder aber besonders die Entwicklungsgeschichte berücksichtigen, versucht Verfasser durch seine Untersuchungen einen Zusammenhang zwischen dem anatomischen Bau und der physiologischen Funktion der einzelnen Gewebeteile nachzuweisen. Da neue Gewebe, die sich normal im Pflanzenreich überhaupt nicht finden, auch bei Pflanzengallen nicht vorkommen, konnte sich der Verfasser im allgemeinen an die Einteilung, die Haberlandt für die normalen Gewebe aufgestellt hat, anschließen. Nach diesen Gesichtspunkten wurden untersucht *Albugo candida* auf *Capsella Bursa pastoris*, *Exoascus amentorum* auf *Alnus incana*, *Ustilago Maydis* auf *Zea Mays*, *Puccinia adoxae* auf *Adoxa Moschatellina* und *Exobasidium Rhododendri* auf *Rhododendron ferrugineum* und *Rh. hirsutum*. Auf die zahlreichen Einzelheiten dieser sehr interessanten Untersuchungen einzugehen, ist hier nicht möglich<sup>1)</sup>. Es muß in dieser Beziehung auf das Original verwiesen werden, das sowieso jeder, der sich wissenschaftlich mit der Gallenfrage beschäftigt, nicht entbehren kann. Aus dem Gesamtergebnis sei jedoch einiges hervorgehoben. Es interessieren dabei zunächst die durch den Parasiten hervorgerufenen Veränderungen der Zelle, von der jeder einzelne Teil Veränderungen erfahren kann. Der feinere Bau des Cytoplasma wurde nicht untersucht, im allgemeinen war aber eine Vermehrung desselben, verbunden mit größerer Dichte und Undurchsichtigkeit, an den gereizten Stellen wahrzunehmen. Daß ein Schwund des Plasmas dort eintritt, wo dasselbe dem Pilz zur Nahrung dient, ist selbstverständlich. Die äußere Hautschicht des Protoplasten wird dort, wo Hyphen (besonders Haustorien) in die Zelle eindringen, eingestülpt. Häufig kommt es dabei zu einer Abkapselung des Eindringlings durch Cellulose. Der Zellkern zeigt ganz

1) Daß von *Albugo* auf *Capsella* nur die Conidienform vorkommen soll, ist wohl nur versehentlich angeführt.

allgemein eine Größenzunahme, die entweder ohne Aenderung der Gestalt oder unter gleichzeitiger Lappung und Sprossung stattfindet. Die Zahl der Chromatophoren, besonders der Leukoplaste, ist oft sehr vermehrt. Der Zellsaft findet sich in den Nährgeweben meist spärlich, in den Wassergeweben reichlich, nicht selten tritt in ihm Anthocyan auf. Die Zellmembran erfährt verschiedene Veränderungen, die im wesentlichen darauf hinauslaufen, daß ihre Widerstandsfähigkeit herabgesetzt wird. Nur die gummösen Verquellungen und die Einkapselungen sind als Schutzmaßregeln aufzufassen. Von den anatomisch-physiologischen Systemen der normalen Pflanzen finden wir bei den Pilzgallen hauptsächlich das Hautsystem, das Leitungssystem, das Speichersystem und das Durchlüftungssystem wieder. Die übrigen Systeme fehlen entweder ganz oder haben doch keine besondere Bedeutung.

Appel (Dahlem).

**Korff**, Ueber das Auftreten schädlicher Getreidemilben in Bayern im Sommer 1905. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. 1905. Heft 10 u. 11.)

Verf. behandelt kurz die bisher bekannten Milbenerkrankungen der Getreidearten, und kommt auf die im letzten Sommer in Bayern häufig als Schädiger festgestellten Milben zu sprechen. Am Hafer wurde *Tarsonemus*, an Hafer, Gerste, Roggen und Weizen *Pediculoides graminum* Reut. und vielleicht auch *P. Avenae* beobachtet. *Pediculoides* tritt im Gegensatz zu *Tarsonemus* meist nur in wenigen Exemplaren an einer Pflanze auf.

Die Beschädigung kennzeichnet sich bei Hafer durch Zurückbleiben im Wachstum, Steckenbleiben der Ähren bzw. Rispen, gelbliche und bräunliche Flecke an den Blattscheiden, und Einrollung der Blattscheide des obersten Blattes. Bei Gerste und Weizen sind die Kennzeichen auch wegen der Ähnlichkeit der Beschädigung mit der von *Chlorops taeniopus* nicht so deutlich. Bei Roggen schossen die Ähren zwar aus, sind aber taub und lückenhaft.

Als Besonderheit sei noch bemerkt, daß mit Befall durch *Tarsonemus* öfters Rotfärbung der Inflorescenz zusammenzugehen scheint.

Milben werden wahrscheinlich durch das Saatgut im Haarschopf der Körner verschleppt. Ebenso wie *Pediculoides* und *Tarsonemus* konnten auch Mehlmilben (*Acarus farinae* und *plumicae*) im Absiebsel von Getreidekörnern gefunden werden.

Ehrenberg (Breslau).

## Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Schouten, S. L.**, Reinkulturen aus einer unter dem Mikroskop isolierten Zelle. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. XXII. 1905. p. 10—44.)

Verf. hat zur Isolierung einer einzigen Zelle aus dem Tropfen einer feuchten Kammer folgende Vorrichtung konstruiert. Durch je einen Spalt in der linken und rechten Seitenwand einer feuchten Kammer werden feine Glasnadeln (Verf. hat 4 verschiedene Formen dafür), die zum

Teil spitz auslaufen, zum Teil am Ende zu einem Auge umgebogen sind, eingeführt. Um mit den Nadeln möglichst feine Bewegungen ausführen zu können, ist jede außerhalb der feuchten Kammer an einem Halter befestigt, der seinerseits auf einem um den inneren Endpunkt drehbaren Kupferstab ruht. Durch einen Trieb unterhalb wird dieser und somit die Nadel bewegt. Nach Anwendung guter Sterilisationsmethoden, auf die hier einzugehen zu weit führen würde, bringt man einige Tropfen  $\frac{3}{4}$ -proz. NaCl-Lösung mit Material und einige Tropfen des Nährbodens, auf dem man kultivieren will, auf das Deckglas. Das Auge der linken Nadel nähert man nun einer Zelle am Rande des Tropfens mit Material. Entfernt man die Nadel wieder, so hat man in dem Auge die Zelle in einem kleinen Tropfen isoliert. Diesen bringt man neben den Tropfen des Nährmaterials. Mit der rechten Nadel wird dann die Zelle von hier in den Nährbodentropfen selbst gebracht. Um bei der Weiterkultur der Zelle ein Sauerwerden des Nährbodens zu verhüten, legt Verf. auf den Boden der feuchten Kammer ein Stückchen Filtrierpapier, das mit 2-proz. KOH-Lösung getränkt ist. Verf. hebt die Vorteile seiner Methode besonders gegenüber der Kochschen Plattenmethode hervor und empfiehlt sein Verfahren besonders für die Untersuchung von Bakterien, von Pleomorphie, Kopulation, Symbiose und Parasitismus niederer Organismen etc., da man bei aller Sicherheit stärkste Vergrößerungen anwenden kann.

Verf. selbst stellte mit seiner Methode fest, daß ein *Vibrio* sich in ein Stäbchen verwandeln kann, und umgekehrt. Ferner erhielt er eine Zwergrasse von *Rhizopus Orycae*, die sich bereits 3 Jahre lang konstant hält.

Freund (Halle a. S.).

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Tiraboschi, C.**, I filtri di porcellana d'amianto e la filtrazione delle acque potabili. (Annali d'Igiene sperimentale. 1905. No. 4.)

Wenngleich Verf. seine besondere Aufmerksamkeit den Amiantfiltern schenkt (Mallié-Kerzen, Kerzen aus Amiantporzellan), die kürzlich in den Handel eingeführt worden sind, so hat seine Arbeit für die Filterfrage doch nur ein ganz allgemeines Interesse.

Wie bekannt, sind die Filterkerzen für die Keime nur eine mehr oder weniger kurze Zeit lang undurchlässig, worauf einige in den Kerzen gebliebenen Keime sich vermehren und schließlich ins Wasser gelangen. So kann es zuweilen vorkommen, daß das filtrierte Wasser mehr Keime enthält, als das zu filtrierende. Bedingung für das gute Funktionieren dieser Kerzen ist, daß sie neu sind oder aber sauber gehalten werden, was sich in zufriedenstellender Weise durch Waschen und Calcination erhalten läßt. Bei dieser Behandlung (die auch nicht teilweise durch Waschen mit Essigsäure ersetzt werden kann, da man in diesem Falle Gefahr läuft, in das filtrierte Wasser auch essigsaures Kupfer gelangen zu lassen) springen und brechen viele Kerzen und werden also unverwendbar. Gerade in dieser Hinsicht scheinen die Amiantporzellanfilterkerzen einen Vorzug zu verdienen, da sie ohne jede Gefahr erhitzt und sterilisiert werden können. Ein anderer Vorteil liegt in der Dauer ihrer Verwendbarkeit, die nach Verf. größer ist, als

die der gewöhnlichen Kerzen aus Kieselerde. Während überdies bei Kieselerdekerzen zwischen Kerze und Kerze derselben Fabrikmarke und -nummer Verschiedenheiten bestehen, sind die Amiantkerzen stets gleich und stellen konstante Typen dar.

Verf. bespricht dann eingehend verschiedene Fragen, die den Bakteriologen interessieren, die ich aber übergehe, wenngleich sie für die Filtrationsfrage von Wichtigkeit sind.

So hat Verf. wahrgenommen, daß die mobilen Keime immer leichter durch die Kerzen hindurchgehen als die immobilen, sowie daß in der Dicke der Filtrierkerze eine gewisse Zeit lang auch pathogene und andere Keime am Leben bleiben können.

Was nun die technische Seite dieser Filter anbetrifft, so bleibt nach Verf. die Tatsache bestehen, daß die Amiantfilterkerzen (Amiantzement oder Amiantporzellan) zwar mit den anderen Filtern einige Nachteile gemein haben, immerhin aber die billigsten, praktischsten und sichersten kleinen Filter sind.

Bertarelli (Turin).

**Thumm**, Augenblicklicher Stand der Abwässerreinigung nach dem biologischen Verfahren. (Oesterr.-ungar. Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1905. Heft 5.)

Verf. sieht in dem Gegensatz, wie er sich zur Zeit in Deutschland zwischen den Anpreisungen der biologischen Abwässerreinigungsverfahren und ihren tatsächlichen Leistungen ausspricht, die Veranlassung, eine möglichst objektive Darstellung der vorliegenden Verhältnisse zu geben.

Nach ihm ist im Gegensatz zu der in England seitens der Aufsichtsbehörde gehandhabten Urteilsweise das biologische Verfahren unstrittig unter den im allgemeinen in Deutschland bestehenden Verhältnissen auch ohne Landnachbehandlung als vollwertige Abwässerreinigungsmethode anzusehen. Die in beiden Ländern verschiedene Beurteilung findet ihre Erklärung dadurch, daß infolge des in England meist auf Oberflächenwasser angewiesenen Wasserbedarfs die sichere Entfernung im Abwasser etwa enthaltener pathologischer Keime, wofür das biologische Verfahren keine Gewähr bietet, dort wichtiger ist als in unserem, Grundwasser verbrauchenden Lande.

Die mannigfaltigen Mißerfolge des biologischen Verfahrens sieht Verf. teils in unzureichender Verwendung des Verfahrens selbst, z. B. zur Farbwasserreinigung, begründet, teils in Konstruktionsmängeln und ungenügender Anpassung an örtliche Verhältnisse, ganz besonders aber in zu kleinen räumlichen Verhältnissen der Anlagen, wie ungenügender Bedienung und Ueberwachung. Hier sind, soll das biologische Verfahren für Deutschland überhaupt eine Zukunft haben, Verbesserungen dringend nötig.

Das biologische Verfahren, das in seiner Leistungsfähigkeit die mechanische oder mechanisch-chemische Reinigung erheblich übertrifft, hinter der intermittierenden Filtration und der Berieselung allerdings bezüglich der Aenderung des Keimgehalts zurücksteht, ist nicht zu empfehlen für die Reinigung von Abwässern, welche schädigende Stoffe, z. B. Phenole, oder reiche Kalkmengen oder, wie Abwässer von Bleichereien, viel freies Chlor enthalten. Das Gleiche gilt, wie schon erwähnt, für farbstoffführende Abwässer.

Wohl aber ist die behandelte Methode für die Abwässer ganzer Städte und kleinerer Gemeinwesen verwendbar, auch für Abwässer

mancher Industrien, so für Schlachthof-, Brauerei- und Molkereiabwässer, für die Wässer von Stärke- und Zuckerfabriken, Lederfabriken und Holzstofffabriken. Endlich ist auch noch von Bedeutung, daß durch das biologische Verfahren zur Entlastung der Rieselfelder (Leicester, Birmingham) in erheblichem Maße beigetragen werden kann. — Allerdings ist trotz der schon weitgehenden Kenntnis aller notwendigen Bedingungen doch die Benutzung und eingehendes Studium von Versuchsanlagen sehr zu empfehlen, ehe man an die Herstellung größerer Anlagen geht, da nur so die ausgiebige praktische Erfahrung gewonnen werden kann, welche zum vollwertigen Betriebe der biologischen Anlagen unerläßlich ist, zumal es hierbei viel auf Einzelheiten ankommt.

Nach Hervorhebung der den Füll- wie den Tropfverfahren im einzelnen zukommenden Vorzüge — beide hält Verf. für grundsätzlich gleichwertige Methoden — kommt er auf die notwendige Vorbehandlung der Abwässer zu sprechen, die eine möglichst weitgehende Befreiung von Schlammstoffen und Mischung gewährleisten soll. Empfehlenswert ist zu diesem Zwecke eine mechanische Vorbehandlung der Abwässer in Becken, selten wird Vorfaulung nötig sein, gegebenenfalls auch chemische Behandlung. Die bei der Vorfaulung eintretende Schlammverzehrung bemißt Verf. als gering, und führt andere Beobachtungen teilweise auf Berechnungsfehler zurück. Jedenfalls hat man beim biologischen Verfahren in allen Fällen mit nicht unbeträchtlichen Schlamm-mengen zu rechnen, die, falls man nur eine flüchtige Vorklärung vornimmt, sich an den biologischen Körpern ausscheiden und hier Reinigungsmaßnahmen veranlassen. Bezüglich der Kosten biologischer Reinigungsverfahren hebt Verf. hervor, daß sie keineswegs so gering sind, wie allgemein in Deutschland angenommen wird. Zuverlässige Zahlen sind allerdings kaum bekannt.

Ehrenberg (Breslau).

## Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

### Allgemeines.

Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten. Hrsg. v. M. Hollrung. Bd. VII. Das Jahr 1904. Berlin (Parey). VIII, 374 p. 8°. 15 M.

Koch, R., Vorläufige Mitteilungen über die Ergebnisse einer Forschungsreise nach Ostafrika. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXI. 1905. N. 47. p. 1864—1869. 24 Fig.)

Löhnis, F., Einführung in die Bakteriologie. Für Landwirte verfaßt. Leipzig (Voigt) 1906. 141 p. 8°. 2,50 M.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Abel, Rudolph, Bakteriologisches Taschenbuch, enthaltend die wichtigsten technischen Vorschriften zur bakteriologischen Laboratoriumsarbeit. Aufl. 9. Würzburg (Stuber) 1905. VI, 117 p. 8°. 2 M.

Duckwal, Edward W., Demonstration von Geißeln beweglicher Bakterien und eine einfache Methode, Mikrophotographien herzustellen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. 1905. Heft 11/14. p. 360—362.)

Friedberger, E., Zur Technik der intraperitonealen Injektion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 6. p. 718—720. 1 Fig.)

- Levaditi**, Sur la coloration du *Spirochaete pallida* Schaudinn dans les coupes. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 29. p. 326—327.)
- Meyer, Arthur**, Apparat für die Kultur von anaëroben Bakterien und für die Bestimmung der Sauerstoffminima für Keimung, Wachstum und Sporenbildung der Bakterien species. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 10/11. p. 337—349. 8 Fig.)
- Sitsen**, Erfahrungen über Aceton-Paraffin-Einbettung. (Centralbl. f. allg. Pathol. Bd. XVI. 1905. N. 19. p. 774—775.)

## Systematik, Morphologie.

- Ankersmit, P.**, Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 6. p. 687—695.)
- Bertarelli, E.**, Die Kapselbacillen, insbesondere ihre Systematik und die durch sie bedingten immunitären Reaktionen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. 1905. Heft 11/14. p. 338—349.)
- Blanchard, L. F.**, Deux grégaires nouvelles parasites de Ténébrionides des Maures. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. des sc. Grenoble 1904. Notes et mém. Paris 1905. p. 923—928.)
- Bürgi, Moritz**, Die Staphylokokkeninfektion bei den Hasen. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 6. p. 671—677. 4 Fig.)
- Cépède, Casimir**, Myxosporidies des poissons des Alpes françaises. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. des sc. Grenoble 1904. Notes et mém. Paris 1905. p. 905—913.)
- Charpentier, P. G.**, Sterigmatocystis nigra et acide oxalique. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLI. 1905. N. 9. p. 429—431.)
- Chittenden, F. H. and Titus, E. S. O.**, The dock false-worm (*Taxonus nigrisoma* Nort.). (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomol. Bull. N. 54. 1905. p. 40—43.)
- Dauphin, J.**, Nouvelles recherches sur l'appareil reproducteur des mucorinées. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXLI. 1905. N. 13. p. 533—534.)
- Ducloux, E.**, Sur une coccidiose intestinale du boeuf en Tunisie. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 30. p. 352—354.)
- Ghon, Anton und Mucha, Viktor**, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. 3. Zur Aetiologie der Peritonitis. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 6. p. 641—648. 1 Taf.)
- Graham, W. M.**, Guinea-worm and its hosts. (British med. Journ. 1905. N. 2341. p. 1263—1266. 3 Fig.)
- Guéguen, F.**, Nouveau cas de pseudo-parasitisme d'un *Gordius* dans le tube digestif de l'homme. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 31. p. 398—400.)
- Herzheimer, K. und Löser**, Ueber den Bau der *Spirochaete pallida*. (Münch. med. Wchnschr. Jg. LII. 1905. N. 46. p. 2272—2213.)
- Hesse, Edmond**, Sur un nouveau Myxocystis des oligochètes et sur la place du genre Myxocystis Mrazek dans la système systématique. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. des sc. Grenoble 1904. Notes et mém. Paris 1905. p. 914—916.)
- , Myxosporidies nouvelles des insectes. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. des sc. Grenoble 1904. Notes et mém. Paris 1905. p. 917—919.)
- Joseph, H.**, Chloromyxum protei n. sp. (Zool. Anz. Bd. XXIX. 1905. N. 14. p. 450—451.)
- Laveran, A.**, Haemocytozoa. Essai de classification. (Bull. de l'inst. Pasteur. Année III. 1905. N. 20. p. 809—822.)
- Laveran, A. et Lucet**, Deux hématozoaires de la perdrix et du dindon. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLI. 1905. N. 18. p. 673—676. 5 Fig.)
- Léger, L. et Duboscq, O.**, Les Eccrinides, nouveau groupe de Protophytes parasites. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 141. 1905. N. 9. p. 425—427.)
- Levaditi, C.**, Sur un nouveau Flagellé parasite du Bombyx mori (*Herpetomonas bombycis*). (Compt. rend. Acad. sc. T. CXLI. 1905. N. 16. p. 631—634. 11 Fig.)
- Lignières et Zabala**, Sur une nouvelle maladie des poules (Salmonellose aviaire). (Rec. de méd. vétérin. T. LXXXII. 1905. N. 20. p. 453—464.)
- Matruchot et Ramond**, Un type nouveau de champignon pathogène chez l'homme. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 31. p. 379—380.)
- Mc Alpine, D.**, A new genus of Uredineae—*Uromycladium*. (Ann. Mycologici. Vol. III. 1905. N. 4. p. 303—323. 4 Taf. u. 5 Fig.)
- Mereshkowsky, S. S.**, Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 6. p. 696—703. 1 Taf.)
- Neger, F. W.**, Uredineae et ustilagineae Fuegianae A. P. Dusén collectae. (Svenska Expeditionen till Magellansländerne. Bd. III. 1905. N. 3. p. 59—64.)
- Perrin, W. S.**, A preliminary communication in the life history of *Trypanosoma balbianii*.

- (Comm. préél.). (Proc. R. Soc. Biol. Sér. B. T. LXXVI. 1905. N. B 510. p. 368—375. 4 Fig.)
- Behm, H.**, Ascomycetes Fuegiani A. P. Dusén collecti. (Svenska Expedit. till Magellansländerna. Bd. III. 1905. N. 2. p. 39—58. 3 Taf.)
- Smith, Geoffrey**, Note on a Gregarine (*Aggregata inachi* n. sp.) which may cause the parasitic castration of its host (*Anachus dorsettensis*). (Mitt. a. d. zool. Stat. Neapel. Bd. XVII. 1905. Heft 3. p. 406—410. 1 Taf.)
- Vuillemin, P.**, Identité des genres *Meria* et *Hartigiella*. (Ann. Mycologici. Vol. III. 1905. N. 4. p. 340—343. 8 Fig.)
- , Les *Isaria* du genre *Penicillium*. (Bull. soc. mycol. de France. T. XX. 1905. p. 214—221. 1 Taf.)
- Ward, Henry B.**, The earliest record of *Filaria loa*. (Zool. Annalen. Bd. I. 1905. Heft 4. p. 376—384. 1 Fig.)

#### Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

- Bejerinck, M. W. und Bant, A.**, Wundreiz, Parasitismus und Gummifluß bei den Amygdaleen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 12. p. 366—375.)
- Effront, J.**, Sur l'autophagie de la levure. (Mon. scientif. T. XIX. 1905. p. 485—491.)
- Euler, Hans**, Katalyse durch Fermente. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XLV. 1905. Heft 5/6. p. 420—447.)
- Fuhrmann, Frans**, Ueber die Erreger des Fadenziehens beim Brote. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 13/14. p. 385—399. 1 Taf. u. 1 Kurve.)
- Fuhrmann, Fr.**, Morphologisch-biologische Untersuchungen über ein neues Essigsäure bildendes Bakterium. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 12. p. 377—379.)
- Hansen, Emil Chr.**, Oberhefe und Unterhefe. Studien über Variation und Erbllichkeit. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 12. p. 353—361.)
- Hayduck, Fritz**, Ueber die Bedeutung des Eiweiß im Hefenleben. [Forts.] (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 44. p. 633—635.)
- Klebahn, H.**, Zusammenhänge von Ascomyceten mit Fungis imperfectis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 10/11. p. 336.)
- Mayer, Adolf**, Ueber die Selbsterhitzung des Heus. (Milch-Ztg. Jg. XXXIV. 1905. N. 45. p. 550—552. 2 Fig.)
- Nathan, Leopold und Schmid, Arthur**, Ueber den Einfluß der Metalle auf gärende Flüssigkeiten. 3. Mitt. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XV. 1905. N. 10/11. p. 349—352. 6 Taf.)
- Neger, F. W.**, Neue Beobachtungen an einigen auf Holzgewächsen parasitisch lebenden Pilzen. (Festschr. z. Feier d. 75-jähr. Bestehens d. Forstlehranst. Eisenach 1905. p. 86—98.)
- Pringsheim, Hans H.**, Ueber den Ursprung des Fuselöls und eine Alkohole bildende Bakterienform. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 10/11. p. 300—321. 2 Taf.)
- Rahn, Otto**, Die Zersetzung der Fette. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1905. N. 13/14. p. 422—429. 1 Fig.)
- Reinelt, Josef**, Beitrag zur Kenntnis einiger Leuchtbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 10/11. p. 289—300.)
- Ruata, Guido Q.**, La formation des granulations dans les cultures des vibrions. (Rev. méd. de la Suisse Romande. Année XXV. 1905. N. 10. p. 661—672.)
- Schenck, M.**, Ueber Selbstverdauung einiger Hefearten (obergährige Hefe, Brennereihefe, Kahlhefe). (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVIII. 1905. N. 44. p. 416.)
- Smith, R. Greig**, The possible relationship between bacteria and the gum of *Hakea saligna*. (Proc. of the Linnean Soc. of New South Wales 1905. Part 1. p. 136—174.)
- , Der bakterielle Ursprung der Gummiarten der Arabingruppe. 11. Die Ernährung von *Bacterium acaciae*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 12. p. 380—384.)
- Swellengrebel, N. H.**, Bemerkung zu der Arbeit des Herrn Dr. E. Pantanelli über Pression und Tension der Hefen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 13/14. p. 419—421.)
- Viala, P. et Pacottet, P.**, Nouvelles recherches sur l'Anthracnose (suite). (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIV. 1905. N. 620. p. 489—496. 21 Fig.)

#### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

##### Luft, Wasser, Boden.

- Boetticher, H.**, Die Tätigkeit der Bodenbakterien im Haushalt der Natur. (Mitteil. über Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVII. 1905. N. 10. p. 153—162.)
- Friedemann, Ulrich**, Neuere Fortschritte auf dem Gebiete der Wasserreinigung. (Berlin. klin. Wehnschr. Jg. XLII. 1905. N. 45. p. 1423—1426.)

- Hofer**, Ueber die Vorgänge der Selbstreinigung im Wasser. (München. med. Wchnschr. Jg. LII. 1905. N. 47. p. 2266—2269.)
- Krüger, W.**, Ueber die Bedeutung der Nitrifikation für die Kulturpflanzen. (Landw. Jahrb. Bd. XXXIV. 1905. Heft 5. p. 761—782.)
- Labbé, D.**, Stérilisation de l'air par l'ozone. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 31. p. 378—379.)
- Lauterborn, R.**, Die Ergebnisse einer biologischen Probeuntersuchung des Rheins. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXII. 1905. p. 630—652. 1 Taf.)
- Löhnis, F.**, Untersuchungen über den Verlauf der Stickstoffumsetzungen in der Ackererde. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 12. p. 361—365; N. 13/14. p. 430—435.)
- Tiraboschi, C.**, Ricerche batteriologiche sulle acque del porto di Genova. (Boll. d. R. Accad. di Genova. T. XXX. 1905. N. 3. 23 p.)

## Nahrungsmittel.

- Auerbach, Friedrich und Barschall, Hermann**, Studien über Formaldehyd. 1. Formaldehyd in wässriger Lösung. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXII. 1905. p. 584—629.)
- Bretschneider, Artur**, Ueber das Faulen der Aepfel. (Der Obstgarten. 1905. N. 11. p. 161—164. [Oesterr. landw. Wehnbld.])
- Collatz**, Vier Fälle von Botulismus. (Berlin. klin. Wehnschr. Jg. XLII. 1905. N. 44a. p. 68—70.)
- Giftige Konserven. (Konserven-Ztg. Jg. 1905. N. 45. p. 518.)

## Fleisch.

- Madsen, Th.**, Ueber das Wurstgift und sein Gegengift. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. 1905. Heft 11/14. p. 373—378.)
- Maier, Ad.**, Ueber die Zuständigkeit des Laienfleischbeschauers zur Vornahme der Schlachtvieh- und Fleischschau. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1905. Heft 2. p. 37—40.)
- Matthes, Hermann und Müller, Fritz**, Ueber Konservierungssalze für Hackfleisch. (Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. X. 1905. Heft 9. p. 541—543.)
- Polenske, Eduard**, Fortsetzung der chemischen Untersuchung neuer, im Handel vorkommender Konservierungsmittel für Fleisch und Fleischwaren. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXII. 1905. p. 657—662.)
- Stroh**, Rinderfinnenbefunde bei Milch- und Saugkälbern. [Schluß.] (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1905. Heft 2. p. 40—47.)

## Milch, Molkerei.

- Boekhout, F. W. J. und Ott de Vries, J. J.**, Ueber die Edamerkäsebereitung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 10/11. p. 321—334.)
- Die Ansäuerung der zu verkäsenden Milch. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XV. 1905. N. 45. p. 532. [Nederl. Weekbl. v. Zuivelbereid.])
- Eckles, C. H.**, Untersuchungen über Sauermilchkäse. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XV. 1905. N. 45. p. 529—532.)
- Florentini, Ceradini e Galli**, Alcune ricerche sul sudiciume del latte che si consuma in Milano. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVII. 1905. N. 10. p. 452—458. 1 Fig.)
- Gorini, Const.**, Ueber die Notwendigkeit einer grundlegenden Systematik in der Klassifikation der Milchkulturen. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XV. 1905. N. 44. p. 517—518.)
- Grigoroff, Stamen**, Etude sur un lait fermenté comestible. Le kissélo-mléko de Bulgarie. (Rev. méd. de la Suisse Romande. Année XXV. 1905. N. 10. p. 714—721.)
- Marshall, Charles E.**, Extended studies of the associative action of bacteria in the souring of milk. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 13/14. p. 400—419.)
- Rogers, Lore A.**, The bacteria of pasteurized and unpasteurized milk under laboratory conditions. (U. S. Depart. of agric. Bureau of animal industry. Bull. N. 73. Washington 1905. 32 p.)
- Tachard, E.**, Le lait homicide. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. des sc. 33. sess. Grenoble 1904. Paris 1905. p. 1488—1494.)
- Troili-Petersson, Gerda**, Bemerkungen zu der Arbeit von A. Rodella: Einiges über die Bedeutung der direkten mikroskopischen Präparate für das Studium des Käsebildungsprozesses. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XV. 1905. N. 13/14. p. 430.)

## Bier, Brauerei.

- Bode**, Cholera- und Typhusgefahr, Biergenuß und alkoholfreie Getränke. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVIII. 1905. N. 46. p. 762—763.)
- Schwachhöfer, W.**, Ueber die Behandlung der Gärbottiche. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 47. p. 531—533.)



## Wein, Weinbereitung.

- Arauner, Paul**, Die Weinbereitung. Kurzes und populäres Handbuch der Weinbereitung von der Traube bis zum Ausbau. Kitzingen (Wirth) 1906. IV, 35 p. —, 60 M.  
**Wortmann, Julius**, Biologische Untersuchungen über die Abstiche der Weine. (Landw. Jahrbücher. Bd. XXXIV. 1905. Heft 5. p. 685—760.)

## Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

- Bode, G.**, Desinfektionswirkung und Desinfektionsmittel. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVIII. 1905. N. 45. p. 425—426.)  
**Hartog, Ernst**, Experimentelle Beiträge zur Formaldehyd-Wasserdampfdesinfektion. Diss. med. Marburg, 1905. 8°.  
**de Jaeger, L.**, Diepte-ontsmetting met formaldehyde. (Nederl. Tijdschr. voor Geneeskunde. Jg. 1905. Tweede Helft N. 20. p. 1365—1372.)  
**Müllenbach, H.**, Der derzeitige Stand der Abwasserreinigungsfrage in Amerika. Nach dem Amerikan. d. Engineering Review. (Aus: Gesundheit.) Leipzig (Leineweber) 1905. 48 p. 8°. 1 M.  
**Werner**, Nochmals die Ausrüstung des ländlichen und kleinstädtischen Desinfektors mit dem Breslauer oder dem Roepkeschen Formalinapparat. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVIII. 1905. N. 22. p. 721—741 mit Erwiderung von O. Roepke. p. 741—748.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

## Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Aderhold, Rud.** und **Ruhland, W.**, Ueber ein durch Bakterien hervorgerufenes Kirschensterben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 12. p. 376—377.)  
**Chittenden, F. H.**, The larger canna leaf-roller (*Calpodex ethlius* Cram.). (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomol. Bull. 1905. N. 54. p. 54—58. 4 Fig.)  
 —, The pond-lily leaf-bettle (*Galerucella nymphoeae* Linn.). (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomol. Bull. N. 54. 1905. p. 58—60. 1 Fig.)  
 Cocoa disease in Ceylon. (Tropical Agric. and mag. of the Ceylon agricult. soc. N. S. Vol. XXV. 1905. N. 2. p. 293—296.)  
**van Dine, D. L.**, Insect enemies of tobacco in Hawaii. (Hawaii agric. experiment station. Bull. N. 10. 1905. 16 p. 5 Fig.)  
 Diseases of the thee plant. (Tropical Agric. and mag. of the Ceylon agric. soc. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 3. p. 457—458.)  
**Duvel, J. W. T.**, Cold storage for cowpeas. (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomol. Bull. N. 54. 1905. p. 49—54. 3 Taf. u. 3 Fig.)  
**Green, E. Ernest**, Imported plant pests: necessity for preventive measures in Ceylon. (Tropical Agric. and mag. of the Ceylon agric. soc. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 3. p. 461—462.)  
**Hedgcock, T. T.**, A disease of cultivated Agave due to *Colletotrichum*. (Rep. Missouri Bot. Garden. 1905. N. 16. p. 149—151.)  
**Klebahn, H.**, Eine neue Pilzkrankheit der Syringen. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 10/11. p. 335—336.)  
**Knoche, E.**, Zur Generationsfrage der Borkenkäfer. [Schluß.] (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 10. p. 401—415.)  
**Lewton-Brain, L.**, Fungoid diseases of Cacao. (Tropical Agric. and mag. of the Ceylon agric. soc. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 3. p. 470—473.)  
**Marlatt, C. L.**, The gigant sugar-cane borer (*Castnia licus* Fab.). (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomol. Bull. N. 54. 1905. p. 71—72. 1 Taf.)  
**Maskew, Fdk.**, Notes on Fullers rose beetle in 1904. (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomol. Bull. N. 54. 1905. p. 70—71.)  
**Morrill, A. W.**, Report on a Mexican cotton pest, the „Conchuela“ (*Pentatoma ligata* Say). (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomol. Bull. N. 54. 1905. p. 18—34. 2 Fig.)  
**Osterwalder, A.**, Die Phytophthora-fäule beim Kernobst. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 13/14. p. 435—440.)  
**Petch, T.**, Plant disease prevention. (Tropical Agric. and mag. of the Ceylon agricult. soc. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 2. p. 377—380. 1 Taf.)  
**Floetz, A.**, Ueber die heurige Käferplage. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVIII. 1905. N. 44. p. 415—416.)  
**Quaintance, A. L.** and **Brues, C. T.**, The cotton bollworm. (U. S. Depart. of agric. Bur. of entomol. Bull. N. 50.)  
 Rubber pests. (Tropical Agric. and mag. of the Ceylon agric. soc. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 2. p. 330—332.)

- Smith, Erwin**, The bud rot of the Coconut palm in the West Indies. (Tropical Agric. a. mag. of the Ceylon agric. soc. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 3. p. 459—460.)
- Theobald, Fred. V.**, Notes on the behavior of the Colorado potato beetle in Great Britain. (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomol. Bull. N. 54. 1905. p. 65—68.)
- Titus, E. S. G.**, The Sugar-Cane beetle. (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomol. Bull. N. 54. 1905. p. 7—18.)
- , The sugar-beet crown-borer (*Hulstia undulata* Clemens). (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomology. Bull. N. 54. 1905. p. 34—40. 6 Fig.)
- Viala, P. et Pacottet, P.**, Nouvelles recherches sur l'antracnose (suite). (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIV. 1905. N. 621. p. 517—523. 24 Fig.)
- Walker, C. M.**, The pepper weevil (*Anthonomus oeneotinctus* Champ.). (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomol. Bull. N. 54. 1905. p. 43—49 1 Taf. u. 1 Fig.)

#### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

- Aderhold, E.**, Zur Frage der Vernichtung der Pilze durch Eingraben. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. a. k. Gesundheitsamte. Bd. V. 1905. p. 35.)
- Bailey, Vernon**, Birds known to eat the boll weevil. (U. S. Depart. of agric. Biol. Survey. Bull. N. 22. 1905. 16 p.)
- Chittenden, F. H. and Pratt, F. C.**, An experiment with hydrocyanic-acid gas as a remedy for the cigarette beetle in Dwellings. (U. S. Depart. of agric. Bureau of entomol. Bull. N. 54. 1905. p. 68—70.)
- Jensen, Hjalmar**, Ueber die Bekämpfung der Mosaikkrankheit der Tabakpflanze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 13/14. p. 440—445.)
- Kullisch, Paul**, Was lehrt uns das diesjährige Auftreten der Peronospora, besonders auf den Trauben, für die zukünftige Bekämpfung der Krankheit? [Schluß.] (Mitt. über Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVII. 1905. N. 10. p. 170—172; Weinlaube Jg. XXXVII. 1905. N. 48. p. 543—544.)

#### Inhalt.

##### Referate.

- Buchner, Ed. und Antoni, W.**, Weitere Versuche über die zellfreie Gärung, p. 748.
- Falké**, Die Braunheubereitung, p. 752.
- Gautier, L.**, Sur la biologie du *Melampyrum pratense*, p. 759.
- Grizoni, G.**, Nuovo latte fermentato facile a prepararsi nei servizi ospedalieri. „Il Gioddu“, p. 750.
- Guilliermond, A.**, Remarques sur la karyokinèse des ascomycètes, p. 754.
- , Contribution à l'étude cytologique des cyanophycées, p. 755.
- Guttenberg, Hermann Ritter v.**, Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilzgallen, p. 759.
- Hollrung**, Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten, p. 758.
- Kayser, E.**, Les levures, caractères morphologiques et physiologiques, applications de levures sélectionnées, p. 747.
- Korff**, Ueber das Auftreten schädlicher Getreidemilben in Bayern im Sommer 1905, p. 760.
- Lafar, Franz**, Handbuch der Technischen Mykologie, p. 737.
- Maire, R.**, Recherches cytologiques sur quelques ascomycètes, p. 753.

- Noël, B.**, Nouvelles espèces d'endophytes d'Orchidées, p. 756.
- Sorauer, P.**, Handbuch der Pflanzenkrankheiten, p. 756.
- v. Szontagh, Felix**, Zur Biochemie der Milch, p. 750.
- Thaer**, Die landwirtschaftlichen Unkräuter. Farbige Abbildung. Beschreibung und Vertilgung derselben, p. 758.
- Vuillemin, Paul**, Hyphoides et bactéroïdes, p. 737.
- Wortmann**, Biologische Untersuchungen über die Abstiche der Weine, p. 748.

##### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Schouten, S. L.**, Reinkulturen aus einer unter dem Mikroskop isolierten Zelle, p. 760.

##### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- Thumm**, Augenblicklicher Stand der Abwässerreinigung nach dem biologischen Verfahren, p. 762.
- Tiraboschi, C.**, I filtri di porcellana d'amianto e la filtrazione delle acque potabili, p. 761.

##### Neue Litteratur, p. 763.

Original-Mitteilungen.

*Nachdruck verboten.*

Die Kernteilung von *Saccharomyces ellipsoideus* I Hansen  
bei der Sprossbildung.

Von Dr. Franz Fuhrmann.

Privatdozent an der Technischen Hochschule in Graz.

[Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule in Graz;  
Vorstand: Professor Friedrich Reinitzer.]

Mit 1 Tafel.

Im August vorigen Jahres erschien eine kurze Abhandlung von Swellengrebel<sup>1)</sup> über die Teilung des Kernes der Preßhefe, deren Resultate mit den Ergebnissen meiner vor ungefähr Jahresfrist angestellten Untersuchungen an *Saccharomyces ellipsoideus* I Hansen im wesentlichen übereinstimmen. Meine Beobachtungen an der genannten Hefe zur Zeit der Sprossung sind also für die Ausführungen des eben genannten Forschers eine nicht unwesentliche Stütze und außerdem geeignet, unseren Einblick in die feineren Details der Struktur des ruhenden und sich während der Knospung teilenden Kernes der Hefe zu fördern. Da es mir wegen anderer dringender Arbeiten nicht möglich ist, diese hochinteressanten Untersuchungen in der nächsten Zeit auch auf andere Hefespecies und auf den Vorgang bei der Sporenbildung auszudehnen, wie es ursprünglich geplant war, entschloß ich mich, die bisherigen Beobachtungen an *Saccharomyces ellipsoideus* I für sich zu veröffentlichen.

Bevor ich auf die eigenen Untersuchungen näher eingehe, möge die wesentlichste, diese Fragen berührende Literatur in aller Kürze besprochen werden, wobei ich gleich vorausschicke, daß es sich hier nicht um eine vollständige Zusammenstellung derselben handeln kann.

Darüber, daß die Hefezelle einen Kern besitzt, herrschen zur Zeit keine Zweifel mehr, wohl aber gehen die Meinungen der Forscher über den Bau dieses integrierenden Zellbestandteiles auseinander. Seitdem Schmitz<sup>2)</sup> den Zellkern der Hefe das erstemal mit Hämatoxylin als kleines blaues Pünktchen gefärbt erhielt, wurde er von zahlreichen Forschern sowohl im ungefärbten [Hansen<sup>3)</sup>, Wilhelmi<sup>4)</sup>] als auch im gefärbten Zustande beobachtet und beschrieben.

1) Swellengrebel, M., Sur la division nucléaire de la levure pressée. (Annales de l'institut Pasteur. T. XIX.)

2) Schmitz, Ueber den Zellkern der Thallophyten. (Verhandl. d. naturh. Ver. d. preuß. Rheinlandes u. Westfalens. 4. Folge. Jahrg. VI. 1879.)

3) Hansen, Chr., Les voiles chez le genre *Saccharomyces*. (Compt. rendu d. trav. du laborat. de Carlsberg. T. II. 1886.)

4) Wilhelmi, A., Beiträge zur Kenntnis des *Saccharomyces guttulatus*. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IV. 1898.)

Nach Dangeard<sup>1)</sup>, Bouin<sup>2)</sup>, Janssens und Leblanc<sup>3)</sup> besitzt der Hefekern eine deutliche Membran, ein Kernplasma und ein Kernkörperchen (Nucleolus), welches letzteres nach den Angaben von Guilliermond bei einzelnen Hefen, wie *Saccharomyces ellipsoideus*, kein einzelnes Körperchen ist, sondern durch zahlreiche feine Körnchen ersetzt wird. Eine Membran wird übrigens von Hirschbruch<sup>4)</sup> für *Saccharomyces ellipsoideus* in Abrede gestellt, obwohl der genannte Autor in derselben Abhandlung wenige Seiten später eine solche als Hindernis der weiteren Ausdehnung seines Kernringes anführt. Außerdem wurde von Janssens und Leblanc noch eine mehr oder weniger ausgesprochene Vakuolisierung des Kernes beobachtet.

Darüber, was zum Kern der Zelle zu rechnen ist, herrschen verschiedene Auffassungen. Nach Wager<sup>5)</sup> liegt nun der Zellkern mehr oder weniger nahe einer Vakuole, die neben chromatischen Elementen in Netzanordnung noch Granula enthält. Diese Vakuole nun mit dem Zellkern bildet den eigentlichen Kernapparat der Hefe nach der Ansicht des eben genannten Autors, wobei der kompakte, neben der Vakuole gelegene Körper den Nucleolus vorstellt. Diese Anschauung bestätigt neuerdings wieder Janssens<sup>6)</sup> bis zu einem gewissen Grade, indem er eine Vakuole mit Nucleolus als Kern beschreibt. Swellengrebel (l. c.) bezeichnet den ruhenden Kern der Preßhefe als ein gewöhnlich neben einer Vakuole gelegenes, mehr kugeliges Gebilde, das, wenn es unter oder über der Vakuole liegt, von einem hellen Hof umgeben erscheint, dem Kernhof Hirschbruchs. Dann enthält dasselbe noch einen Nucleolus in Form eines kompakten Körperchens.

Auch über die Teilungsvorgänge am Kern zur Zeit der Sproßbildung gehen die Meinungen der einzelnen Untersucher weit auseinander. Ein Teil derselben erblickt darin eine direkte Kernteilung oder Fragmentation, wie Möller<sup>7)</sup>, Dangeard, Buscalioni<sup>8)</sup>, Buscalioni et Casagrandi<sup>9)</sup>, Casagrandi<sup>10)</sup>, Wager. Dagegen nehmen Janssens, Hirschbruch, Hoffmeister<sup>11)</sup>, Marpmann<sup>12)</sup>, Maffuci und

1) Dangeard, P. A., Sur la structure histologique des levures et leur développement. (Compt. rend. T. CXVII. Paris 1893.)

2) Bouin, M., Contribution à l'étude du noyau des levures. (Arch. d'Anat. microscop. T. I. 1898.)

3) Janssens et Leblanc, Recherches cytologiques sur la cellule de levure (La Cellule. T. XIV. 1898.)

4) Hirschbruch, A., Die Fortpflanzung der Hefe. I. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. 1902.)

5) Wager, H., The nucleus of the yeast plant. (Rep. of the Brit. Assoc. Toronto 1887. Annals of Botany. 1898.)

6) Janssens, A propos du noyau de la levure. (La Cellule. T. XX.)

7) Möller, H., Ueber den Zellkern und die Sporen der Hefe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XII. 1892. Weitere Mitteilungen darüber ebendort. Bd. XIV. Neue Untersuchungen über den Zellkern und die Sporen der Hefen. (Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch. 1903.)

8) Buscalioni, L., Il *Saccharomyces guttulatus* Rob. (Malpighia. Jahrg. X. 1896.)

9) Buscalioni et Casagrandi, Sul *Saccharomyces guttulatus* Rob. (Malpighia. Jahrg. XII. 1898.)

10) Casagrandi, O., Ueber die Morphologie der Blastomyceten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. III. 1897.)

11) Hoffmeister, C., Zum Nachweis des Zellkernes von *Saccharomyces*. (Sitzungsber. d. Deutsch. naturw.-med. Ver. f. Böhmen „Lotos“ in Prag. Jahrg. 1900. N. Folge. Bd. XX.)

12) Marpmann, Ueber Hefen und über den Zellkern bei *Saccharomyceten* und Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. 1902.)

Sirleo<sup>1)</sup> und endlich Swellengrebel eine Karyokinese als Kernteilungsvorgang bei der Sprossung an. Später vertreten Janssens und Leblanc eine vermittelnde Ansicht, indem sie nach ihren Beobachtungen bei den Kernteilungen eine vereinfachte Mitose annehmen, eine Anschauung, der bis zueinem Teil auch Guillermond beipflichtet.

Die während der Sprossung der Hefezelle auftretenden Teilungsfiguren sind nun bis zu einem gewissen Grade von der Lage des Kernes in Bezug auf den Ort der Knospenbildung beeinflusst, besonders was die Länge der verbindenden Fäden zwischen den Teilstücken betrifft.

Nach Janssens und Leblanc bleibt die Kernmembran für gewöhnlich erhalten, wird aber bei *Saccharomyces Ludwigii* gelöst. Nach den genannten Autoren findet bei diesem *Saccharomyceten* eine Zweiteilung des Kernes statt, wobei mitunter zwischen den beiden Teilstücken eine fädige Struktur sichtbar wird. Hierauf wandert der eine Tochterkern in die Sproßzelle ein. Wenn nun eine Art Spindel als Verbindung beider Kernteile nach der Wanderung des einen in die Knospe im Isthmus sichtbar ist, findet sich dort eine besonders hervortretende Querlinie, Zellplatte genannt, von der die Scheidewandbildung zwischen Mutter- und Tochterzelle ausgeht.

Auf die Untersuchungen von Hirschbruch und Swellengrebel werde ich gelegentlich der Mitteilung der eigenen Beobachtungen noch eingehend zurückkommen.

#### Untersuchungstechnik.

Die Kultur von *Saccharomyces ellipsoideus* I Hansen stammt aus dem bakteriologischen Laboratorium von Král in Prag. Die in der Folge benützten Ableger stammten aus einer Zucht von einer Zelle und wurden vor dem Gebrauch auf etwa eingetretene Sporenbildung geprüft, um möglichst einheitliche Bilder des Sprossungsvorganges zu gewinnen. Ich benützte natürlich nur junge Kulturen, die auf neutraler Nährgelatine mit einem Gelatinegehalt von 10 Proz. neben 2 Proz. Pepton sicc. Witte, 1 Proz. Traubenzucker und 0,5 Proz. Chlornatrium, durch 20–24 Stunden bei 22° C gezüchtet wurden.

Für meine Untersuchungen verwendete ich neben Ausstrichpräparaten auch Schnittpräparate, die übrigens Wager und Feinberg auch schon von Hefezellen herstellten.

Die einfachen Trockenpräparate wurden in der allgemein üblichen Weise hergestellt, indem von der jungen Kultur ein wenig in einem Tröpfchen Leitungswasser verrieben, dann auf dem Objektträger oder Deckgläschen ausgebreitet, dann an der Luft bei gewöhnlicher Temperatur vollständig getrocknet und nachher in der Flamme fixiert wurde. Diese Präparationsmethode erwies sich aber zu roh, um die feinsten Strukturen zu erhalten und zur Anschauung zu bringen. Es traten im Zellinhalte Schrumpfung auf, die Bilder verursachten, deren Deutung nur zu leicht auf Irrwege führt. In der Folge verwendete ich zu meinen Untersuchungen überhaupt keine derartigen Präparate mehr.

Ganz brauchbare Präparate erhielt ich, wenn ich die vorsichtig auf einem Objektträger in einem Tröpfchen Wasser ausgebreiteten Hefezellen vor dem Eintrocknen, also noch feucht, auf einige Stunden in absoluten

1) Maffucci und Sirleo, Beobachtungen und Versuche über einen pathogenen *Blastomyceten* bei Einschluß desselben in die Zellen des pathologischen Gewebes. (Centralbl. f. Pathologie. Bd. VI.)

Alkohol einlegte und so härtete. Hier waren die Zellstrukturen, wenn auch nicht glänzend, so doch leidlich erhalten.

Für meine Untersuchungen eigneten sich weitaus am besten Schnittserien von *lege artis* in verschiedenen Fixierungsflüssigkeiten fixierten Hefezellen. Zu dem Ende wurde eine größere Menge vom Belag einer Kultur abgehoben und auf einem Objektträger in ungefähr 1 mm dicker Schicht auf einer Fläche von ca. 1 qcm vorsichtig, ohne stark zu drücken, ausgebreitet, dann mit Hühnereiweiß übergossen und samt der Glasplatte in das Fixierungsgemisch eingelegt. Als solches diente die schwache Lösung von Flemming und das Platinchlorid-Osmium-Essigsäure-Gemisch von Hermann, auf das doppelte Volumen mit Wasser verdünnt. Die Einwirkungsdauer betrug bei beiden 2–3 Stunden. Dann wurde in fließendem Wasser durch 24 Stunden gewaschen und in allmählich steigendem Alkohol langsam gehärtet. Nach dem Ablösen der gehärteten Schicht vom Objektträger, die infolge des koagulierten Eiweißmantels sehr gut zusammenhält, erfolgte deren Einbettung in Paraffin, wobei Xylol als Zwischenflüssigkeit diente. Die 2–4  $\mu$  dicken Schnitte wurden mit Wasser aufgeklebt.

Da immer eine große Anzahl von Hefezellen angeschnitten war, drangen sowohl Farblösungen als auch Differenzierungsmittel sehr leicht und gleichmäßig ein, was eine sehr einheitliche und distinkte Färbung zur Folge hatte.

Auch Ausstrichpräparate wurden mit den genannten beiden Fixierungsgemischen behandelt, doch zeigten die Präparate keine so gelungenen und differenten Färbungen der Zellelemente.

Gefärbt wurden die Präparate nach verschiedenen Methoden. Die Färbungen mit alkalischem Methylenblau nach Löffler oder mit Fuchsin und nachheriger Differenzierung in verdünnter Schwefelsäure nach Hirschbruch waren in einzelnen Fällen zu Orientierungsbildern ganz brauchbar, brachten mir aber die einzelnen Teile nicht in der wünschenswerten Klarheit und Schärfe zur Ansicht, ein Uebelstand, der besonders bei dem letztgenannten Verfahren wegen der, wie mir scheint, etwas allzu energischen Differenzierung unangenehm auffiel.

Weitaus die besten Resultate ergab mir die Eisenlackfärbung unter Verwendung von Liquor ferri sulfurici oxydati nach der Vorschrift von Benda<sup>1)</sup> und Rawitz<sup>2)</sup>, angewendet auf die im Hermannschen oder Flemmingschen Gemisch fixierten und in Schnitte zerlegten Hefepräparate, wobei besonders in den angeschnittenen Zellen sehr distinkte Färbungen erzielt wurden. Die aufgeklebten Schnitte verblieben 4–8 Stunden in der Eisenlösung, wurden dann kurze Zeit (3–5 Minuten) in 3mal gewechseltem destillierten Wasser gewaschen und auf 12–24 Stunden in eine 1-proz. wässrige Hämatoxylinlösung gegeben. Dann wurde in Wasser gut abgespült und in der verdünnten Eisenbeize (1 Teil Beize + 2 Teile Wasser) unter steter mikroskopischer Kontrolle differenziert. Ab und zu nahm ich noch eine Nachfärbung mit Eosin in 1-proz. wässriger Lösung vor, die aber für die Feststellung der Kernstrukturverhältnisse unwesentlich war.

Ich benützte auch die Färbung mit Alizarin nach Rawitz (l. c.) unter Gebrauch der verdünnten Chrombeize G A J der Höchster Farb-

1) Benda, Ueber eine neue Färbung des Zentralnervensystems und Theoretisches über Hämatoxylinfärbungen. (Verhandl. d. physiol. Ges. zu Berlin. 1885/86.)

2) Rawitz, Die Verwendung der Alizarine und Alizarincyanine in der histologischen Technik. (Anat. Anz. Bd. XI. 1895.)

werke und der verdünnten Aufschwemmung von Alizarin I derselben Firma in Wasser mit einem Zusatz von Spuren Calciumacetats. Gebeizt wurde 12—24 Stunden bei Zimmertemperatur. In der Farbflotte verblieben die Schnitte 12 Stunden bei 30° C. Der überschüssige Farbstoff wurde in absolutem Alkohol ausgezogen. Wegen zu starker Mitfärbung des Cytoplasmas ergab mir diese Methode nicht besondere Resultate bezüglich der feineren Kernstruktur, obwohl die Verhältnisse im Cytoplasma gut zum Ausdruck kamen.

Außer den genannten Tinktionen führte ich noch Färbungen mit Ehrlichschem Hämatoxylin aus, die ebenfalls instruktive Bilder lieferten.

#### Eigene Beobachtungen.

Der ruhende Kern von *Saccharomyces ellipsoideus* I Hansen ist klein und läßt an richtig differenzierten Eisenlackpräparaten noch eine feinere Struktur erkennen. Der chromatische Substanz erscheint als Konglomerat feiner und feinsten Körnchen, unter denen mitunter ein größeres Korn auffällt, welches als Kernkörperchen ganz gut zu deuten ist. Das eben beschriebene Korn ist sehr oft von einer hellen, ungefärbten Zone umgeben, dem sogenannten Kernhof Hirschbruchs. Sehr oft fehlt dagegen diese Erscheinung oder die Kontur des hellen Hofes durchschneidet den Kern. Ich halte diese Bildung als nicht zum Kern gehörig und erblicke darin nichts anderes als eine Vakuole, in deren Nähe oder meinetwegen darüber oder darunter sich der eigentliche Kern befindet, wie sich auch Swellengrebel ausdrückt. Ich habe in Fig. 1 und 2 der beigegebenen Tafel diese Verhältnisse illustriert. Der Kern in der Zelle der Fig. 2 zeigt aber noch eine äußerst zarte Umsäumung, die an eine Kernmembran erinnert, welche ich aber bei allen weiteren Teilungsphasen vermißte. In der eben angezogenen Figur kann man in der Mitte des Kernes jenes früher erwähnte, gröbere Korn sehen, das einem Nucleolus gleicht. Mit Berücksichtigung der färbereichen Eigenschaften aller anderen als Nukleolen bekannten Gebilde des tierischen Zellkernes scheint es mir allerdings sehr fraglich, ob man in dem beschriebenen größeren Korn einen Nucleolus des Hefezellkernes erblicken darf, da es die für Nukleolen typische Affinität für Methylenblau nicht besitzt, worauf schon Feinberg<sup>1)</sup> hinwies.

Die Kernteilung wird nun durch eine Vergrößerung des Kernes eingeleitet, die chromatische Substanz nimmt zu und scheint nach Art eines Knäuels angeordnet zu sein. So, glaube ich, kann man ganz ungezwungen Bilder deuten, wie ich sie in Fig. 3 wiedergegeben habe. Die chromatischen Elemente des Kernes werden nun mehr und mehr kondensiert und zu kleinen Schleifchen formiert, die wir ohne weiteres als Chromosomen aufzufassen haben. Es sind gedrungene, regelmäßig geformte Bändchen, die von einer sehr geringen Menge ungefärbter, also achromatischer Substanz umgeben erscheinen, wie ich es in Fig. 4, 5 und 6 gezeichnet habe, eine Erscheinung, die Swellengrebel unerwähnt läßt. Bezüglich der Zahl dieser Bändchen läßt sich mit ziemlich großer Sicherheit eine Gesetzmäßigkeit feststellen. Wir finden beispielsweise in Fig. 4 die Chromosomen in zwei Reihen übereinander gelagert. Die untere besteht deutlich aus zwei Chromosomen, während bei der oberen keine so scharfe Sonderung

1) Feinberg, Ueber den Bau der Hefezellen und über ihre Unterscheidung von einzelligen tierischen Organismen. (Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XX. 1902.)

in zwei Teile zu erkennen ist. In der Zelle der Fig. 5 ist eine Zählung der Chromosomen ohne Schwierigkeiten auszuführen, wobei man die Zahl vier erhält. Auch die Zelle der Abbildung 6 enthält 4 Chromosomen, deren Zählung aber schon schwieriger ist. Nach diesen Beobachtungen stehe ich nicht an, von einer Vierzahl der Chromosomen bei *Saccharomyces ellipsoideus* I zu sprechen, ein Befund, den auch die Untersuchungen von Swellengrebel an Preßhefe bestätigen.

Im weiteren Verlauf der Teilung beginnen sich die aus dem Knäuelstadium hervorgegangenen Chromosomen zu ordnen, indem sie sich kreisförmig lagern. Senkrecht zur Kreisfläche bildet sich nun ein Spindelapparat aus, wie ihn unter anderen auch Janssens, Maffuci und Sirleo teilweise beschreiben. Je nachdem nun die Kernspindel mit den Chromosomen gegen den Beschauer liegt, werden die gesehenen Bilder verschieden sein. Die Fig. 7, 8, 9, 10 und 11 sollen diese Verhältnisse näher beleuchten. Fig. 7 zeigt uns die kreisförmig angeordneten Chromosomen, die eine helle Partie einschließen, an der man wieder zentral gelegen eine dunkler gefärbte Stelle sieht, von der radiär feinste Fasern ausstrahlen. Noch schöner zeigt uns Fig. 8 die kreisförmige Anordnung der Chromosomen, die wir hier mit ziemlicher Genauigkeit sogar zu zählen vermögen. Es sind 8 vorhanden. Es haben sich also hier die Mutterchromosomen bereits gespalten, worauf wir später noch zurückkommen werden. Von der Seite betrachtet, erhalten wir vom Kernapparat während dieser Teilungsphase Bilder, wie sie in Fig. 9, 10 und 11 wiedergegeben sind. Hier sehen wir eine ungefärbte mehr oder weniger elliptische Partie, den in die Fläche projizierten Spindelapparat, an dessen Äquator die Chromosomen liegen. Die beiden Pole der Spindel verbinden zahlreiche meridianartig verlaufende Fasern, deren Knotenpunkt an den Polen eine dunklere Färbung annimmt. Hier und da macht es den Eindruck, als handle es sich um ein kleines Körnchen, von dem aus eine Polstrahlung statt hat. Ich sah derartige Gebilde sehr häufig, wage es jedoch nicht, sie für Centrosomen zu erklären, obgleich für eine derartige Deutung besonders die Befunde der Fig. 20 sprechen. Swellengrebel behauptet zwar, einmal ein Centrosoma gesehen zu haben, spricht sich über dessen Existenz aber sehr zurückhaltend aus.

Nun folgt eine Teilung der Chromosomen, allem Anscheine nach in der Längsrichtung derselben. Dieses Teilungsstadium gibt uns Fig. 8 von oben gesehen wieder. Wir haben also jene Phase erreicht, die man als Monaster zu bezeichnen pflegt.

Es wandern nun die Chromosomen gegen die Pole der Spindel, was aus den Fig. 12, 13, 14 und 15 ohne weiteres ersichtlich ist. Aus einer großen Anzahl von Befunden während dieses Stadiums der Kernteilung können wir schließen, daß das achromatische Gerüst höchstwahrscheinlich aus zwei verschiedenen Anteilen zusammengesetzt ist. Diese Annahme erhärten gewisse färberische Erscheinungen. Wenn man Bilder, wie Fig. 13 und 14 näher betrachtet, so findet man, daß, die zwischen den beiden Kernhälften ausgespannten Fasern viel lichter gefärbt sind, als das Faserwerk, welches die Pole mit den Tochterchromosomen verbindet. Bei diesen Beobachtungen drängt sich unwillkürlich der Gedanke auf, daß als Ursache dieses Färbungsphänomens eine verminderte Faseranzahl zwischen den beiden Kernhälften verantwortlich gemacht werden kann. In diesem Falle würden sich eben gewisse Fasern mit den Chromosomen polwärts zurückziehen, denn daß es nicht alle tun, geht daraus hervor, daß in den weiteren Kernteilungsstadien immer noch Fasern zwischen



den beiden Kernteilen nachweisbar sind, wie aus den Fig. 15, 16, 17 und 20 zu entnehmen ist.

Wir haben nun ein ausgesprochenes Dyasterstadium vor uns, wie wir es bei höheren Zellen zu sehen gewohnt sind. In der Folge lagern sich Tochterchromosomen, sobald sie die Spindelpole erreicht haben, wieder um, lösen sich gleichsam in einen Knäuel auf, um allmählich in das Ruhestadium überzugehen. Sehr lange Zeit erhält sich noch ein Teil der anhängenden Spindelfasern (Fig. 16), die endlich auch verschwinden, vielleicht eingezogen werden, was sich bei der Kleinheit des untersuchten Objekts nicht nachweisen läßt.

Wenn man meine Beobachtungen mit jenen von Swellengröbel vergleicht, so wird man finden, daß sie im wesentlichen übereinstimmen, wenn auch kleine Differenzen bestehen.

Swellengröbel glaubt nach seinen Befunden auf eine Verschiedenartigkeit der bei der Teilung entstandenen Tochterkerne schließen zu können, stellt dies als eine bemerkenswerte Erscheinung hin, ohne sie des näheren zu erörtern und bringt sie in Einklang mit den Angaben von Buscalioni und Casagrandi, daß bei der Kernfragmentation anlässlich der Sprossung von *Saccharomyces guttulatus* Rob. der Mutterkern in zwei ungleichgroße Teilstücke zerlegt wird, von denen das kleinere in die Tochterzelle wandert. Für eine derartige Annahme finde ich bei meinen Untersuchungen nicht die geringste Stütze. Ich erhielt immer den Eindruck von gleichgeteilten Kernen, wenigstens war keine augenfällige Ungleichheit der Teilstücke zu erkennen. Natürlich ist eine Verminderung der chromatischen Substanz nicht ganz von der Hand zu weisen, wenn wir die modernen Anschauungen von der Vererbung auch auf die Kernteilung und Fortpflanzung der Hefezelle übertragen wollen. Vorderhand ließen sich jedoch nur Hypothesen aufstellen, die durch keine Beobachtungen von stattgehabten Reduktionsteilungen zu erhärten wären. Ich will aber bei meinen Untersuchungen alle Schlüsse vermeiden, deren Stützen nicht durch direkte Beobachtungen gegeben sind.

Wie verhält sich nun räumlich und zeitlich der Kernteilungsvorgang zum Sprossungsvorgang? Nach zahlreichen Beobachtungen können wir sagen, daß im allgemeinen die Knospung in einem späteren Zeitpunkt einsetzt, als die Kernteilung. In den meisten Fällen beginnt erstere zur Zeit des Monasterstadiums, kann aber auch gleichzeitig mit der Kernteilung einsetzen. In den seltensten Fällen beginnt sie erst nach vollendetem Dyaster. Die Lage des sich teilenden Kernes ist sehr verschieden und scheint von der Sproßstelle in keiner Weise abhängig zu sein. Etwas bestimmter kann man sich darüber ausdrücken, in welchem Teilungsstadium die Ueberwanderung des Tochterkernes in den Sproß geschieht. Meistens wird die Karyokinese bis zur Bildung des Knäuelstadiums in der Mutterzelle fortschreiten und dann der Uebertritt erfolgen (Fig. 18). Hie und da macht es den Anschein, als fände der Uebergang auch schon etwas früher statt. Doch sind dies nur seltene Befunde. Im allgemeinen folgt dann beim vollständigen Auswachsen des Sprosses ein Ruhestadium in beiden Kernen, doch kann eine rasch folgende zweite Karyokinese des neuen Mutterkernes auch beobachtet werden, wie es Fig. 19 zeigt.

Der ganze Teilungsvorgang bei der Sprossung von *Saccharomyces ellipsoideus* I Hansen verläuft also nach dem Typus einer vollständigen Karyokinese, deren einzelne Phasen zusammenfassend folgendermaßen beschrieben werden können:

1) Auflockerung des ruhenden Kernes unter Zunahme an chromatischer Substanz, wobei die fragliche Kernmembran verschwindet.

2) Bildung von (wahrscheinlich) vier Chromosomen.

3) Lagerung der Chromosomen zum Monaster unter Ausbildung einer achromatischen Spindel (vielleicht mit Centrosomen).

4) Teilung der Chromosomen in Tochterchromosomen.

5) Bildung des Dyasters.

6) Polare Umlagerung der Chromosomen zu einem an das Knäuelstadium erinnernden Gebilde.

7) Rückkehr zum Ruhestadium jedes Tochterkernes.

Bei der Durchmusterung meiner Präparate erhielt ich auch eine Anzahl von Befunden, die ich gewiß nicht in dem soeben gegebenen Schema unterbringen kann. Eine Erklärung dafür ist sehr naheliegend. Diese Befunde vermögen an den oben mitgeteilten Tatsachen nichts zu ändern, denn es ist keineswegs ausgemacht, daß ältere oder unter ungünstigen Bedingungen wachsende Zellen nicht erhebliche Abweichungen auch in Bezug auf die Kernteilung zeigen. Darauf wurde schon von verschiedenen Autoren hingewiesen. Ob es sich in diesen Fällen um physiologische oder pathologische Prozesse handelt, vermag ich nach meinen Untersuchungen nicht zu entscheiden, ebensowenig kann ich die von Hirschbruch in seiner zweiten Mitteilung über „Die Fortpflanzung der Hefezelle“ angegebenen Befunde durchwegs bestätigen. Darüber können uns nach meiner Meinung nur experimentelle Untersuchungen aufklären, nicht aber allein die Beobachtung eines wahren Chaos von verschiedenen Formen, wie sie Hirschbruch vor sich gehabt hatte, über deren Entstehungsursache wir aber nichts wissen.

Hirschbruch berichtet noch über einen sexuellen Akt vor der Kernteilung von *Saccharomyces ellipsoideus* I, der darin bestehen soll, daß eine Konjugation von zwei in der Zelle vorhandenen und sich durch besondere färberische Erscheinungen auszeichnenden Kernen stattfindet, ein Vorgang, der nach ihm auf Bisexualismus und hermaphroditischer Selbstbefruchtung zurückzuführen ist. Eine Kritik dieser Anschauung liegt mir ferne, doch konnte ich bei gelegentlicher sorgfältigster Nachuntersuchung mit Anwendung der Hirschbruchschen Methode niemals auch nur eine einzige Stelle in den Präparaten finden, die mich auch nur im entferntesten an etwas Derartiges gemahnt hätte. Auch nach meinen Methoden hergestellte Präparate enthielten niemals etwas Aehnliches. Ebenso erging es mir bezüglich der Hirschbruchschen Angaben über die Teilungsvorgänge am Kern der Hefe, die ich nach meinen Untersuchungen nicht bestätigen kann.

Graz, im November 1905.

#### **Tafelerklärung.**

Die Abbildungen stammen, mit Ausnahme der Figg. 16 und 18, von Schnittpräparaten, die nach vorheriger Fixierung im Hermannschen Gemisch nach der Eisenlackmethode mit oder ohne nachfolgender Eosinfärbung hergestellt wurden. Fig. 16 ist nach einem mit Alizarin gefärbten Ausstrichpräparate angefertigt, während Fig. 18 nach einem mit Löfflerschem Methylenblau tingierten Ausstrichpräparate gezeichnet wurde. Die beiden letztgenannten Präparate waren im Flemmingschen Gemisch fixiert. Die Vergrößerung der Zeichnungen schwankt zwischen 1600 und 2000 lin. Sämtliche Abbildungen wurden unter Anwendung einer 2 mm Apochromat-Immersion mit Kompensationsokularen von Zeiss und des Abbeschen Zeichenapparates gezeichnet.





Fig. 1-4.

Fig. 5-8.

Fig. 9-12.

Fig. 1 zeigt eine Hefezelle mit ruhendem Kern, der von einem hellen Hof umsäumt ist.

Fig. 2 stellt eine ebensolche Zelle dar, deren Kern neben einer Vakuole liegt, eine Kernmembran besitzt und in dem fein granulierten Kerninhalt ein größeres Korn zentral erkennen läßt, das einem Nucleolus gleicht.

Fig. 3 bezieht sich auf eine Zelle mit sehr jungem Sproß, deren Kern ebenfalls neben einer größeren Vakuole liegt und den Anfang der Kernteilung zeigt.

Fig. 4 zeigt uns eine Zelle, wo der neben der Vakuole gelegene Kern bereits Chromosomen erkennen läßt, die von achromatischer Substanz umgeben erscheinen.

Fig. 5 zeigt uns dasselbe Verhalten des Kernes wie Fig. 4, nur ist die Anzahl der Chromosomen (4) deutlich zu erkennen.

Fig. 6 bezieht sich auf eine Zelle, deren Kern auch schon in Chromosomen zerteilt ist, deren Zahl aber wegen zu geringer Differenzierung nicht leicht genau bestimmbar ist.

Fig. 7 zeigt uns eine sprossende Zelle mit Vakuole und Kern, der sich im Stadium des Monasters befindet, wobei die Chromosomen eine kreisförmige Anordnung zeigen und die Spindel bereits ausgebildet ist.

Fig. 8 bezieht sich auf eine Zelle, deren Chromosomen schon gespalten erscheinen.

Fig. 9, 10 und 11 zeigen Zellen, in denen die Teilungsspindel mit den äquatorial gelagerten Chromosomen gut zu sehen ist. An den Polen erkennt man ein dunkler gefärbtes Pünktchen, das vielleicht ein Centrosoma vorstellt.

Fig. 12, 13 und 14 veranschaulicht die polwärts gerichtete Wanderung der bereits geteilten Chromosomen, die nun einen Dyaster bilden.

Fig. 15 zeigt die polare Lagerung der Tochterkerne mit erhaltenen achromatischen Verbindungsfasern.

Fig. 16 betrifft eine Zelle mit junger Knospe, wo in der Mutterzelle die Karyokinese fast abgelaufen ist und der sich im Knäuelstadium befindliche Tochterkern zur Einwanderung in den Sproß anschickt. Die achromatische Spindel ist bereits durchrisen und ihre Reste hängen noch an den Tochterkernen.

Fig. 17 zeigt eine Zelle mit weit entwickelter Knospe, in die der Tochterkern eingewandert ist. Der 2. Tochterkern in der Mutterzelle liegt einer Vakuole eng an. Von den Fasern sind noch Reste erhalten.

Fig. 18 bezieht sich auf eine Zelle mit fast gleichen Verhältnissen wie in Fig. 17.

Fig. 19 stellt eine Zelle vor, deren Sproß einen ruhenden Kern enthält, während in der Mutterzelle bereits eine zweite Karyokinese fast vollendet wurde.

Fig. 20 betrifft eine Zelle mit jungem Sproß, deren Kern sich im Stadium des Dyasters befindet.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Biologie der Wasserbakterien.

[Aus dem botanischen Laboratorium von Prof. Dr. F. Czapek an der Deutschen technischen Hochschule in Prag.]

Von **Eduard Kohn**, Assistent am Institute.

Mit 3 Kurven.

(Schluß.)

Aus den Tabellen XII und XV ist zu ersehen, daß jene Formen die niedrigste Lage des Traubenzuckerminimums zeigen, welche während des Stehens der Wasserproben am spätesten aufgetreten waren. Die ersterschiedenen Formen bieten das höchstgelegene Zuckerminimum. So zeigt *Bacillus hydrophilus fuscus* das Traubenzuckerminimum bei 7,92  $\mu\gamma$ , *Sarcina flava* bei 0,000792  $\mu\gamma$ , *Bacillus flavens* bei 0,792  $\mu\gamma$ , *Micrococcus aquatilis* bei 0,00000791  $\mu\gamma$ . Für *Aspergillus niger* und *Mucor mucedo* ist auch jene Konzentration bestimmt worden, bei welcher eben noch Konidienbildung beobachtet wird, und es sind diese Resultate in der Tabelle XVI wiedergegeben.

Original from  
ARD UNIVERSITY

Digitized by Google

**Tabelle XIII.**  
Das Wachstumsminimum bei Darreichung verschiedener Kohlenstoffverbindungen in  $\mu\gamma$  pro 4 ccm.

Für	Traub.- Zucker $\mu\gamma$	Glycerin $\mu\gamma$	Wein- säure $\mu\gamma$	Milch- säure $\mu\gamma$	Kalium- acetat $\mu\gamma$	Bern- stein- säure $\mu\gamma$	Aethyl- alkohol $\mu\gamma$	Natrium- formiat $\mu\gamma$	Harn- stoff $\mu\gamma$	Glykolsäure $\mu\gamma$	Oxymethyl- sulfosäure $\mu\gamma$	Methyl- alkohol $\mu\gamma$
<i>Sarcina rosea</i>	7,92	736,0	5,96	0,00356	47,20	0,464	3,68	720—7,2	24,00	600—60	444 u. 44,4	512,0
<i>Bacillus acetosus</i>	7,92	73,60	5,96	356,0	0,0472	46,40	0,0368	72—0,72	240,0	6000—600	—	5120
<i>Bacillus Pe- tersii</i>	7,92	73,60	59,6	35,60	0,472	464,0	0,0368	720—7,20	240,0	60,00	—	512,20
<i>Bacterium ureae</i>	79,2	73,60	596	35,60	4720	464,0	3680—368	720—72	0,0024	60,00	—	512—51,2

**Tabelle XIV.**  
Das Wachstumsminimum bei Darreichung verschiedener Kohlenstoffverbindungen (für Vergleichsobjekte) in  $\mu\gamma$  pro 4 ccm.

Für	Traub.- Zucker $\mu\gamma$	Glycerin $\mu\gamma$	Wein- säure $\mu\gamma$	Milch- säure $\mu\gamma$	Kalium- acetat $\mu\gamma$	Bern- stein- säure $\mu\gamma$	Aethyl- alkohol $\mu\gamma$	Natrium- formiat $\mu\gamma$	Harn- stoff $\mu\gamma$	Glykolsäure $\mu\gamma$	Oxymethyl- sulfosäure $\mu\gamma$	Methyl- alkohol $\mu\gamma$
<i>Bacillus subtilis</i>	79,20	7360,0	596,0	356,0	472,0	46,40	3680—36,80	720 0	24,0	nur bei 60,0	—	5120
<i>Bacillus mesentericus</i>	7,92	73,60	59,60	356,0	4720—4,72 in 2-proz. Lös. schwach	464,0	3680—0,0368	72—0,072	240,0	bei 600 u. 60	—	512,0
<i>Saccharomyces glutinis</i>	7,92	7,36	5,96	35,60	0,472—0,0472	4640,0	3,68	720—7,2	240,0	600—60 etwas in 2-proz. Lös.	—	512—0,512
<i>Micrococcus prodigiosus</i>	0,00792	7,36	5,06	35,60	0,472—0,0472	464,0	368—3,68	720—0,72	2,40	etwas in 2-proz. Lös.	—	0,512
<i>Aspergillus niger</i>	0,792	7,36	59,60	3,56	472,0	46,40	368—36,8	—	240,0	600—0,6	444 u. 44,4	nur bei 5,12 schwach
<i>Mucor mucedo</i>	0,000792	7,36	0,596	0,356	0,472	0,0464	3,68	720—0,72	2,40	0,60	444—0,444	0,512
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,00792	7,36	0,596	0,356	47,20	4,64	0,368	720—7,2	240,0	etwas in 2-proz. Lös.	444—44,4	0,512

Tabelle  
Das Wachstumsminimum bei Darreichung ver-

Für	Trauben- zucker $\mu\gamma$	Glycerin $\mu\gamma$	Wein- säure $\mu\gamma$	Milch- säure $\mu\gamma$	Kalium- acetat $\mu\gamma$	Bernstein- säure $\mu\gamma$
<i>Bacillus flavens</i>	0,792	73,6	59,60	3,56	4,72	464,0
<i>Bacillus ruber aquatilis</i>	0,00792	7,36	0,596	0,356	4,72	464,0
<i>Bacillus candidus lique- faciens</i>	0,000792	7,36	0,596	0,00356	47,2	46,70
<i>Sarcina alba</i>	0,00792	0,0736	0,596	0,00356	0,0472	0,0464
<i>Bacillus violaceus</i>	0,000792	0,00736	0,00596	0,00356	0,000472	0,00464
Weißer Torula	0,000792	0,00736	0,00596	0,0356	0,000472	0,000464
<i>Micrococcus aquatilis</i>	0,00000792	0,0000736	0,000596	0,0000356	0,00000472	0,00000464
<i>Bacillus digitatus</i>	0,0792	0,0736	59,60	0,000356	47,20	46,40
<i>Bacillus margaritaceus</i>	0,0792	7,36	59,60	0,356	472,0	464,0
<i>Bacillus Pasteuri</i>	0,00792	7,36	0,596	0,0356	47,20	4,64
<i>Bacillus acetigenus</i>	0,0792	0,736	0,596	0,0356	0,00472	0,0464

Tabelle XVI.

Die kleinste wirksame Substanzmenge verschiedener Kohlenstoffquellen ( $\mu\gamma$  in 4 ccm), bei welcher für *Aspergillus niger* und *Mucor mucedo* Konidienbildung zu beobachten war.

	Trauben- zucker $\mu\gamma$	Glycerin $\mu\gamma$	Wein- säure $\mu\gamma$	Milch- säure $\mu\gamma$	Kalium- acetat $\mu\gamma$	Bernstein- säure $\mu\gamma$	Aethyl- alkohol $\mu\gamma$	Natrium- formiat $\mu\gamma$	Harn- stoff $\mu\gamma$	Glykol- säure $\mu\gamma$
<i>Aspergillus niger</i>	7,92	736	59,6	35,6	4720	464	nur bei 368	—	240	nur zwischen 600—6,00
<i>Mucor mucedo</i>	0,0792	7,36	59,6	35,6	47,20	0,464	368	nur zwischen 720 u. 72	nur zwischen 240 u. 24	nur zwischen 600—0,600

## b) Maximale Grenze.

Dieselbe wurde nur für Traubenzucker bestimmt.

Bei dieser Untersuchung ging ich von einer 15-proz. Traubenzuckerlösung aus und prüfte alle Objekte zunächst mit dieser, dann mit einer 12-proz., 10-proz. und 5-proz. Lösung. Als Stickstoffquelle diente in allen Fällen wieder  $\frac{1}{3}$  des absoluten Gewichtes des Traubenzuckers an Ammoniumphosphat. Man ersieht aus der Tabelle XVII, daß manche Formen bereits bei 5-proz. Traubenzuckerlösung nicht mehr fortkommen und zwar sind dies die genügsamsten Formen aus beiden Wasserproben, die einen höheren Traubenzuckergehalt nicht mehr vertragen, während die anspruchsvollen Mikroben noch in einer 15-proz. Lösung gut wuchsen. Das Wachstum dieser Arten in Traubenzuckerlösung dürfte erst durch osmotische Wirkungen gehemmt werden. Für die erwähnten genügsamen Bakterienformen wird sich wahrscheinlich ergeben, daß sie sich an stärkere Traubenzuckerlösungen bis zu gewissem Grade gewöhnen lassen.

(Siehe Tabelle XVII p. 721.)

c) Relative Eignung einfach gebauter Kohlenstoffverbindungen für die genügsamsten Formen von Wasserbakterien.

Es sind, wie aus Tabelle XVIII hervorgeht, für diese genügsamsten



## XV.

schiedener Kohlenstoffverbindungen in  $\mu\gamma$  pro 4 ccm.

Aethylalkohol	Natriumformiat	Harnstoff	Glykol- säure	Oxymethyl- sulfosäure	Methylalkohol
$\mu\gamma$	$\mu\gamma$	$\mu\gamma$	$\mu\gamma$	$\mu\gamma$	$\mu\gamma$
3680—36,8	72	240—24	600—6	—	5,12
3,68	0,72	2,40	0,60	4440—444	0,0512
0,0368	7,20	2,40	600—6,00	44,4—4,44	512—0,000512
0,00368	0,0072	0,00024	0,006	4440—0,0444	0,000512
3,68—0,000368	7200—0,00072	0,00024	600—0,006	—	51,2—0,000512
36,8—0,00000368	720—0,000072	0,00024	0,006	4,44—0,000444	512—0,000512
0,000000368	0,72—0,00000072	0,000000024	0,000006	44,4—0,0000444	0,000000512
36,80	7200—720	240,00	600,0	—	5,12
368—36,8	720,0	0,24	60,00	4440—44,4	5,12
0,0368	7,20	0,024	60,00	44,4—4,44	0,512
0,000368	720—0,0072	0,00024	0,06	4,44—0,0444	0,00512

Tabelle XVII.  
Traubenzuckermaximum.

	15-proz. Traubenzucker	12-proz. Traubenzucker	10-proz. Traubenzucker	5-proz. Traubenzucker
Bac. hydroph. fuscus	+	+	++	++
Bac. fluoresc. immob.	+	+	++	++
Rote Torula	+	+	++	++
Sarc. alba	—	+	—	++
Bac. cuticularis	—	—	—	+
Bac. violaceus	—	—	—	+
Bac. ruber	—	+	+	++
Sarc. flava	—	—	—	+
Sarc. rosea	+	+	+	++
Bac. acetosus	—	+	+	++
Bac. Petersii	—	+	+	++
Bact. urea	—	—	+	+
Bac. subtilis	+	+	++	++
Bac. mesentericus	+	+	++	++
Sacch. glutinis	+	+	++	++
Bact. prodigiosum	—	+	++	++
Asperg. niger	++	++	++	++
Mucor mucedo	++	++	++	++
Sacch. cerevisiae	+	++	++	++
Bac. flavens	+	++	++	++
Bac. ruber aquat.	+	++	++	++
Bac. cand. liquef.	+	+	++	++
Weiße Torula	—	—	—	+
Micrococc. aquat.	—	—	—	—
Bac. digitatus	—	—	+	+
Bac. margoritaceus	—	—	+	++
Bac. Pasteuri	—	—	—	—
Bac. acetigenus	+	+	++	++

Formen 5-proz. Lösungen von Harnstoff, Bernsteinsäure, Glykolsäure, Essigsäure manchmal bessere Nährstoffe als dieselben Mengen von Traubenzucker.

Tabelle XVIII.

	Bacillus violaceus	Sarcina alba	Sarcina flava	Weiß Torula	Micrococc. aquatilis
5-proz. Traubenzuckerlösung + 1 Proz. Ammon.-Phosph.	+	++	+	+	—
5-proz. Harnstofflösung + 1 Proz. Ammon.-Phosph.	++	++	++	++	+
5-proz. Glykolsäurelösung + 1 Proz. Ammon.-Phosph.	—	+	+	+	+
5-proz. Bernsteinsäurelösung + 1 Proz. Ammon.-Phosph.	+	+	+	+	+
5-proz. Kaliumacetatlösung + 1 Proz. Ammon.-Phosph.	+	++	++	++	+

## 2. Die Verhältnisse der Stickstoffversorgung.

Für diese Untersuchungen hatte ich mir meine Reagentien: Ammoniumsulfat und Ammoniumphosphat, durch mehrmaliges Umkristallisieren gereinigt und bis zum konstanten Gewicht bei 100° C getrocknet. Als Kohlenstoffquelle benutzte ich Traubenzucker, und zwar in jener niedrigsten Menge, bei der sich nach Bestimmung des Kohlenstoffminimums noch ein deutliches Wachstum ergab. Bei den Versuchen, wo als Stickstoffquelle Ammoniumsulfat diente, wurde als den Phosphorbedarf deckende Substanz Natriumphosphat benutzt. Von diesem wurde nach der prozentischen Zusammensetzung des Moleküls phosphorhaltiger Eiweißstoffe der 25. Teil des absoluten Gewichtes des Traubenzuckers benutzt. 1 Millimol Traubenzucker = 0,198 g,  $\frac{1}{47}$  Millimol Natriumphosphat = 0,0081 g wurden in 1000 ccm destillierten Wassers gelöst: Lösung a. In einem anderen Kolben wurde  $\frac{1}{2}$  Millimol Ammoniumsulfat = 0,066 g in 1000 ccm Wasser gelöst: Lösung b. Von diesen zwei Lösungen wurden je 2 ccm aus einer Bürette in die einzelnen Reagenzröhrchen abgelassen, so daß wieder 4 ccm resultierten. Als Kontrollprobe diente hier eine Lösung der Zusammensetzung a in der betreffenden Konzentration des Versuches, also eine Lösung ohne die betreffende Stickstoffquelle. Die Grenzen des Stickstoffbedarfes wurden im übrigen unter denselben Kautelen bestimmt, wie sie oben bezüglich Eruierung des Kohlenstoffminimums geschildert worden sind. Die Lösung a enthielt also in 4 ccm nach Durchführung der oben angeführten Verdünnungen folgende absolute Stoffmengen:

bei Konz.	I 792	µγ Traubenzucker und	32,4	µγ Natriumphosphat
" "	II 79,2	" "	3,24	" "
" "	III 7,92	" "	0,324	" "
		u. s. w.		

Die Lösung b in 4 ccm:

bei Konz.	I 264	µγ Ammoniumsulfat
" "	II 26,4	" "
" "	III 2,64	" "
		u. s. w.

Von der Lösung a wurde jene Konzentration genommen, welche sich aus der Bestimmung des Kohlenstoffminimums ergab, während mit der Lösung b immer wieder tiefer gegangen wurde, bis ein Wachstum nicht mehr eintraf. Bei den Versuchen mit Ammoniumphosphat als Stickstoffquelle wurde als Kohlenstoffquelle die Lösung a ohne Zugabe von Natriumphosphat (Lösung α) und von dem Ammoniumphosphat ein halbes

Millimol = 0,066 g in 1000 ccm Wasser gelöst (Lösung  $\beta$ ). Für 4 ccm ergaben sich folgende Konzentrationen:

Lösung $\alpha$				Lösung $\beta$			
bei Konz.	I	792	$\mu\gamma$	bei Konz.	I	264	$\mu\gamma$
" "	II	79,2	"	" "	II	26,4	"
" "	III	7,92	"	" "	III	2,64	"

u. s. w.

Dadurch, daß von jeder dieser Lösungen 2 ccm verwendet wurden, wurde das Volum von 4 ccm wieder hergestellt.

Die Tabelle XIX enthält die gefundenen Resultate nebst dem Kohlenstoffminimum für Traubenzucker und dem Grenzverhältnis von C:N. Es ergaben sich hier analoge Verhältnisse wie für den Kohlenstoffbedarf, nur nicht in so markanter Weise. Das Minimum für Stickstoff war bei allen Formen niedriger gelegen als das Kohlenstoffminimum.

Tabelle XIX.

	Kohlenstoff- minimum für Trauben- zucker $\mu\gamma$	N-minimum b. Darreichung v. Ammonium- Phosphat. $\mu\gamma$	N-minimum bei Darreichung von Ammonium- Phosphat $\mu\gamma$	Verhältn. v. C:N b. Traubenz. + Amm.- Sulfat.	Verhältn. v. C:N b. Traubenz. + Amm.- Phosphat.
<i>Bac. hydroph. fuscus</i>	7,92	0,0264	0,0264	300:1	300:1
<i>Bac. fluoresc. immob.</i>	0,792	0,0264	0,002644	30:1	300:1
Rote Torula	0,792	0,00264	0,00264	300:1	300:1
<i>Sarc. alba</i>	0,00792	0,000264	0,00264	30:1	3:1
<i>Bac. cuticularis</i>	0,00792	0,000264	0,000264	30:1	30:1
<i>Bac. violaceus</i>	0,000792	0,000264	0,000264	3:1	3:1
<i>Bac. ruber</i>	0,000792	0,0000264	0,0000264	30:1	30:1
<i>Sarc. flava</i>	0,000792	0,0000264	0,0000264	30:1	30:1
<i>Sarc. rosea</i>	7,92	26,4	26,4	3:10	3:10
<i>Bac. acetosus</i>	7,92	2,64	0,264	3:1	30:1
<i>Bac. Petersii</i>	7,92	0,264	0,264	30:1	30:1
<i>Bact. ureae</i>	79,2	0,264	26,4	300:1	3:1
<i>Bac. subtilis</i>	79,2	26,4	26,4	3:1	3:1
<i>Bac. mesentericus</i>	7,92	2,64	0,264	3:1	30:1
<i>Sacch. glutinis</i>	7,92	0,000264	0,000264	30 000:1	30 000:1
<i>Bact. prodigiosum</i>	0,00792	0,000264	0,000264	30:1	30:1
<i>Asperg. niger</i>	0,792	0,000264	0,0264	3 000:1	30:1
<i>Mucor mucedo</i>	0,000792	0,0000264	0,0000264	30:1	30:1
<i>Sacch. cerevisiae</i>	0,00792	0,000264	0,0000264	30:1	300:1
<i>Bac. flavens</i>	0,792	0,000264	0,00264	30 000:1	3 000:1
<i>Bac. ruber aquat.</i>	0,00792	0,0000264	0,0000264	300:1	300:1
<i>Bac. cand. liquef.</i>	0,000792	0,00000264	0,00000264	300:1	300:1
Weiß Torula	0,000792	0,000264	0,00000264	3:1	300:1
<i>Micrococc. aquat.</i>	0,00000792	0,000000264	0,0000000264	30:1	3 000:1
<i>Bac. digitatus</i>	0,0792	0,000264	0,00264	300:1	30:1
<i>Bac. margaritaceus</i>	0,0792	0,00264	0,000264	30:1	300:1
<i>Bac. Pasteuri</i>	0,00792	0,0000264	0,0000264	300:1	300:1
<i>Bac. acetigenus</i>	0,0792	0,00264	0,00264	30:1	30:1

Zur Durchführung dieser Bestimmung mußten wegen widersprechender Resultate einige Versuche öfters wiederholt werden. Zur Verwendung kamen nur Gefäße aus Schottglas.

### 3. Die Verhältnisse des Phosphorbedarfes.

Als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle diente hier die gefundene

kleinste Menge an Traubenzucker resp. Ammoniumsulfat, bei der noch sicheres Wachstum zu verzeichnen war. Es wurden folgende Lösungen hergestellt:

a) Als Kohlenstoffquelle: 1 Millimol Traubenzucker = 0,198 g in 1000 ccm destillierten Wassers gelöst; von dieser Lösung wurde 1 ccm verwendet. In den steigenden Verdünnungen waren in 4 ccm folgende Stoffmengen enthalten:

Konz.	I	792	$\mu\gamma$	Traubenzucker
"	II	79,2	"	"
"	III	7,92	"	"
			u. s. w.	

b) Als Stickstoffquelle:  $\frac{1}{2}$  Millimol Ammoniumsulfat in 1000 ccm destillierten Wassers gelöst. Je 4 ccm enthielten an absoluten Mengen:

Konz.	I	264	$\mu\gamma$	Ammoniumsulfat
"	II	26,4	"	"
"	III	2,64	"	"
			u. s. w.	

Auch von dieser Lösung wurde 1 ccm verwendet.

c) Als Phosphorquelle:  $\frac{1}{4}$  Millimol Natriumphosphat = 0,0081 g wurde in 1000 ccm destillierten Wassers aufgelöst; durch entsprechende Verdünnung wurden folgende Lösungen hergestellt:

In 4 ccm enthielt	Konz.	I	32,4	$\mu\gamma$	Natriumphosphat
" 4 "	"	II	3,24	"	"
				u. s. w.	

Von dieser Lösung wurden 2 ccm verwendet, so daß das Totalvolumen nach Vermischen der drei Lösungen wieder 4 ccm betrug. Trotzdem ich mit dieser Lösung c für den *Bacillus hydrophilus fuscus*, *Bacillus flavens*, *Bacillus fluorescens*, *Torula rosea*, *Aspergillus niger* und *Mucor mucedo*, also auch für solche Formen, deren Kohlenstoff- und Stickstoffminimum ein hohes ist, bis zur Konzentration XIII = 0,000000000324  $\mu\gamma$  Natriumphosphat herunterging und nur Gefäße aus Schottglas verwendete, konnte immer noch Wachstum nachgewiesen werden, so daß ich die Versuche resultatlos abbrach.

Der Grund meiner Mißerfolge dürfte darin zu suchen sein, daß ich als Auflösungs- resp. Verdünnungsmittel destilliertes Wasser verwendete, welches durch langes Stehen in dem Glasgefäße jene minimale Spuren an Phosphaten gelöst enthielt, welche bereits zur Entwicklung der untersuchten Bakterien und Pilze genügten. Ich gedenke diese Versuche mit Hilfe besserer Methoden zu erneuern und behalte mir vor, darüber noch zu berichten.

#### 4. Einfluß von chemischen Reizen auf das Kohlenstoffminimum.

Grundlegend für diese Versuche waren die Erfahrungen von Herbert Maule Richards<sup>1)</sup>, welcher bei Anwendung von Zinksulfat als Reizsubstanz die optimale Wirkung als Wachstumsreiz bei Anwendung von 0,002—0,004-proz. Lösungen feststellte. Ich bereitete mir eine 0,003-proz. Zinksulfatlösung und indem ich diese Lösung anstatt reinen destillierten Wassers als Auflösungs- resp. Verdünnungsmittel für die Nährsubstanzen anwendete, wollte ich feststellen, ob sich die gefundenen Kohlenstoffminima für *Aspergillus niger* und *Mucor mucedo* nicht herabdrücken ließen.

1) Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Bd. XXX. 1897. p. 664.

**Ich fand bei *Aspergillus niger*:**

- Wachstum aufgehört: für Traubenzucker bei Konz. V  
 = 0,0792  $\mu\gamma$  Traubenzucker und 0,0264  $\mu\gamma$  Ammoniumphosphat in 4 ccm.  
 Konidienbildung nicht mehr nachweisbar bei Konz. IV  
 = 0,792  $\mu\gamma$  Traubenzucker und 0,264  $\mu\gamma$  Ammoniumphosphat in 4 ccm.

**Bei *Mucor mucedo*:**

- Wachstum aufgehört bei Konz. VIII  
 = 0,0000792  $\mu\gamma$  Traubenzucker und 0,0000264  $\mu\gamma$  Ammoniumphosphat in 4 ccm.  
 Konidienbildung nicht mehr nachweisbar bei Konz. VI  
 = 0,00792  $\mu\gamma$  Traubenzucker und 0,00264  $\mu\gamma$  Ammoniumphosphat in 4 ccm.

Für den folgenden Versuch wurden nun dieselben Konzentrationen in bekannter Weise hergestellt, nur mit dem Unterschiede, daß hierbei Wasser verwendet wurde, welches 0,03 g Zinksulfat, in 1 Liter gelöst, enthielt.

**Die Resultate ergaben bei *Aspergillus niger*:**

- Wachstum aufgehört bei Konz. V.  
 Konidienbildung noch nachweisbar bei Konz. IV.

**Bei *Mucor mucedo*:**

- Wachstum aufgehört bei Konz. VIII.  
 Konidienbildung noch nachweisbar bei Konz. VI und VII.

Der Einfluß von chemischen Wachstumsreizen war daher nur im Grenzwerte für die Konidienbildung zur Geltung gekommen. Auffallend war, daß *Mucor mucedo* wie hier, so auch sonst fast bei allen Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen ein tieferes Minimum als *Aspergillus niger* besaß. Der Grund dürfte in dem Fettgehalte der zur Aussaat gekommenen Konidien resp. Sporen beider Pilze liegen. Nach Marschall<sup>1)</sup> weisen die Konidien von *Aspergillus niger* einen Fettgehalt von 4,7 Proz. auf, während die Sporen von *Mucor stolonifer* 7 Proz. Fett enthalten.

**Uebersicht über die wichtigsten Ergebnisse.**

- 1) Bei längerem Stehen von größeren Proben natürlichen süßen Wassers ändert sich die Mikrobenflora sowohl quantitativ als auch in der Zusammensetzung.
- 2) Die Zunahme der Keimzahl ist am stärksten in den Gefäßen aus jenen Glassorten, welche am meisten in Wasser löslich sind.
- 3) Bei höherer Temperatur nimmt die Mikrobenzahl rascher zu, als bei niedriger Temperatur, erreicht aber keinen höheren Maximalpunkt und sinkt wieder rascher ab als bei niedriger Temperatur.
- 4) Die Zusammensetzung der Mikrobenflora ändert sich so, daß zuerst die anspruchsvollsten Formen auftreten, welche dann durch anspruchslosere verdrängt werden.
- 5) Die zuerst auftretenden Arten zeigen bei Darreichung von Traubenzucker erst bei Konzentrationen, welche bereits schädliche osmotische Wirkungen entfalten, eine Wachstumshemmung und wachsen noch in 15-proz. Traubenzuckerlösung. Die zum Wachstum nötige Minimalkonzentration liegt hier etwa 7,92—0,00792  $\mu\gamma$  in 4 ccm oder  $198 \times 10^{-10}$  bis  $198 \times 10^{-13}$  Proz. Die zuletzt erscheinenden Arten vermögen noch mit Traubenzuckerlösungen von 0,000792—0,00000792  $\mu\gamma$  auf 4 ccm oder  $198 \times 10^{-14}$  bis  $198 \times 10^{-16}$  Proz. ihr Auslangen zu finden. Für diese genügsamsten Formen erweist sich Trauben-

1) Marschall, Arch. Hyg., Bd. XXVIII. 1897. p. 16.

zucker andererseits schon bei einer Konzentration von 5 Proz. im allgemeinen als eine schlechtere Nährstoffquelle als eine Reihe einfacherer Kohlenstoffverbindungen, z. B. Harnstoff, Glykolsäure, Bernsteinsäure, Kaliumacetat, derselben Konzentration.

6) Bei *Urobacillus Pasteuri* entfaltet schon eine 3-proz. Traubenzuckerlösung Giftwirkungen.

7) Die Wachstumsgrenzen für die den Stickstoffbedarf deckenden Substanzen liegen bei Ammoniumsulfat zwischen 0,00264—0,000000264  $\mu\gamma$  auf 4 ccm oder  $66 \times 10^{-13}$  bis  $66 \times 10^{-17}$  Proz. und für Ammoniumphosphat zwischen 0,00264—0,0000000264  $\mu\gamma$  auf 4 ccm oder  $66 \times 10^{-13}$  bis  $66 \times 10^{-19}$  Proz., und für alle Formen niedriger als das betreffende Minimum für Traubenzucker.

8) Die Bestimmung des Phosphorminimums gelingt bei Anwendung der gebräuchlichen Methoden nicht, wenn auch durchweg mit Schottgläsern gearbeitet wird, da das als Auflösungs- bzw. Verdünnungsmittel verwendete destillierte Wasser bereits — durch Stehen in Glasgefäßen — jene minimalen Spuren von Phosphaten aufnimmt, welche für das Fortkommen der untersuchten Formen auslangen.

9) Durch chemische Wachstumsreize, wie Zinksulfat, ist bei *Mucor mucedo* und *Aspergillus niger* ein Herabdrücken des Wachstumsminimums für Traubenzucker nicht möglich, wohl aber gelingt es, den Grenzwert für die Konidienbildung zu erniedrigen.

*Nachdruck verboten.*

## Die Reifung des Harzkäses. II

Von C. H. Eckles und Otto Rahn.

[Aus dem milchwirtschaftlichen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts in Göttingen.]

### Reinkulturversuche von Rahn.

In unserer ersten Mitteilung<sup>1)</sup> haben wir bereits darauf hingewiesen, daß bei der Reifung des Harzkäses eine Milchsäure oxydierende Kahlhefe eine wesentliche Rolle spielt. Neue Versuche mit steriler Käsemasse haben diese Annahme vollauf bestätigt.

Wie wir schon bemerkten, war es uns nicht gelungen, die frische Harzkäsemasse, d. h. gesalzenen, mit Kümmelkörnern durchsetzten Quark, mit Aether zu sterilisieren, und durch Erhitzen veränderte das Kasein seine Eigenschaften vollständig. Befriedigende Resultate erzielten wir jedoch mit Chloroform. Die frische Käsemasse wurde in Röhrchen etwa 2 cm hoch hineingepreßt und mit Chloroform betropft; dann wurden die Röhrchen mit Watte verschlossen, die in Chloroform getaucht war, und in ein verschlossenes Gefäß gestellt. Ließ man nach etwa 8 Tagen das Chloroform verdunsten, so erwiesen sich die Röhrchen vollkommen steril. Der Quark wurde nun mit verschiedenen, aus Käse isolierten Organismen geimpft. Das Wachstum war anfangs in allen Proben kein besonders gutes; alle Organismen außer den Milchsäurebakterien bildeten eine Reifungsschicht an der Oberfläche, indem sie das Kasein peptonisierten, und bei den Oidien und Hefen erweiterte sich dieselbe durch

1) Dieses Centralblatt. Abt. II. Bd. XIV. p. 676.

das Fortschreiten nach unten zu einer Speckschicht von typischem Aussehen. Nach 25 Tagen wurden die Kulturen auf Geruch und Geschmack geprüft. Befriedigend war nur das Aroma der Kahlmhefekultur; *Oidium lactis* hatte einen muffigen, *Oidium lactis cerebriforme* einen fauligen Geruch verursacht. Die Milchsäurehefekultur roch süßlich nach Preßhefe. Die Mischkulturen mit Milchsäurebakterien hatten keine wesentlich abweichenden Zersetzungen bewirkt. *Oidium lactis* mit *Bact. lactis acidii* hatte ein besseres Aroma bewirkt, bei der Kahlmhefe war es bei der Mischkultur jedoch verschlechtert worden.

Um bei weiteren Untersuchungen möglichst der Praxis entsprechende Versuchsbedingungen einzuhalten, sterilisierten wir eine größere Menge von frischem Käse durch Zugießen von Chloroform. Nach 14 Tagen wurde eine Molkenreinkultur von Hefe zugegossen, und wir versuchten aus der Masse Harzkäse zu formen. Das gelang jedoch nicht, denn durch die Chloroformbehandlung hatte das Kasein alle plastischen Eigenschaften verloren; es war mehr kautschukähnlich geworden und klebte gar nicht aneinander. Wir schütteten daher ein wenig von dem geimpften Kasein in eine Petri-Schale und legten einige große Klumpen, die sich darin vorfanden, unter eine sterile Glasglocke. Nach 2 Tagen zeigte sich auf dem weißen Quark bereits eine dünne gelbe Schicht, und ein leichter Reifungsgeruch war bemerkbar; nach 4 Tagen war derselbe bereits sehr deutlich. Die Käseklumpen wurden nun in Salzlake getaucht, einige wurden auch noch mit einem Gemisch der Reinkulturen der Farbstoff bildenden Kokken geimpft. Die Reifung wurde durch das Salzen nicht sichtlich beeinflusst, jedoch störte eine Infektion mit einem sehr schnell wachsenden *Mucor* den Versuch. Durch erneutes Eintauchen in Salzlake wurde seine Entwicklung zwar ein wenig aufgehalten, aber nicht unterdrückt, daher wurde nach 10 Tagen der Käse untersucht und verkostet. Der Geruch war normal, die fast  $\frac{1}{2}$  cm dicke Reifungsschicht hatte richtigen Harzkäsegeschmack, der Kern war bitter. Die Farbstoffkokken hatten sich gar nicht entwickelt. Die bakteriologische Kontrolle zeigte, daß Infektion mit Kokken stattgefunden hatte.

Bei einem 2. Versuch wurden 6 fertig geformte, ganz frische Harzkäse unter einer Glasglocke auf Glasbänken in Chloroformdampf gehalten. Nach 8 Tagen ließen wir das Chloroform verdunsten und bepinselten die 6 Käse mit einer Kahlmhefereinkultur, davon außerdem noch 4 mit 2 verschiedenen Milchsäurebakterienreinkulturen. Die Reifung verlief (vielleicht infolge der hohen Zimmertemperatur im Hochsommer) nicht normal. Die Käsoberfläche bedeckte sich mit einer trockenen Kahlmhaut; darunter bildete sich eine stark verflüssigte Schicht und nach 5—6 Tagen glitt die Haut allmählich vom Käse herunter. Nach 10 Tagen wurde der Versuch abgebrochen. Die Reifung war nur etwa 2—3 mm vorgeschritten; die gereifte Partie schmeckte bei allen Käsen normal; der Kern war ganz ungerieft und hatte einen bitteren Nachgeschmack, vielleicht infolge des nicht ganz verdunsteten Chloroforms. Die Milchsäurebakterien hatten sich trotz starker Impfung gar nicht entwickelt; dagegen war bei 5 Käsen eine Kurzstäbcheninfektion nachzuweisen. Ein Unterschied zwischen diesen und dem einzigen nicht infizierten war nicht zu bemerken.

Bei einem 3. Versuch wurden 3 Käse in der gleichen Weise mit Chloroformdampf 22 Tage sterilisiert, bis durch Abimpfung Sterilität festgestellt wurde. 2 von diesen Käsen wurden alsdann unter größter Vorsicht vor Infektion mit einer Kahlmhefereinkultur bepinselt und unter

einer sterilen Glocke mit steriler Watte verschlossen aufbewahrt. Die Reifung verlief ganz normal. Nach 3 Tagen zeigten die geimpften Käse Gelbfärbung, nach 8 Tagen wurde der eine in gekochte gesättigte Salzlösung getaucht. Nach 12 Tagen hatte der ungesalzene Käse eine *Penicillium*-Infektion, daher wurde der Versuch unterbrochen.

Der gesalzene Käse hatte ganz normales Aussehen und war tadellos in Geruch und Geschmack. Der ungesalzene hatte eine trockene Haut, freilich nicht so stark ausgebildet wie bei den Käsen im vorigen Versuch. Er hatte ebenfalls Harzkäsegeschmack, doch wurde von 5 Personen übereinstimmend der gesalzene Käse für besser erklärt. Die Reifungsschicht der Käse war fast vollständig wasserlöslich. Der weiße Kern hatte Chloroformgeschmack. Der ungeimpfte Kontrollkäse hatte sich weder im Aussehen noch im Geschmack verändert. Die bakteriologische Untersuchung zeigte auch hier wieder eine Infektion durch Stäbchen. Im gefärbten Präparat betrug die Zahl der Stäbchen beim ungesalzenen Käse 4,5 Proz., beim gesalzenen 10 Proz.; auf Agarplatten waren nur 5 Proz. aller Kolonien Bakterienkolonien.

Ein weiterer ganz gleicher Versuch wurde mit 3 Käsen angestellt, die 45 Tage in Chloroformdampf gelegen hatten. Die Reifungstemperatur betrug im Durchschnitt etwa 16°, während sie beim vorigen Versuch etwa 18° gewesen war. Die Reifung war nach 4 Tagen bei den beiden geimpften Käsen deutlich sichtbar und schritt langsam vorwärts. Nach 10 Tagen zeigte der eine Käse eine kleine Kolonie von *Penicillium glaucum*. Infolgedessen wurde der andere Käse sofort herausgenommen, in sterile konzentrierte Salzlösung getaucht und unter eine andere Glasglocke gebracht. Der infizierte Käse war 3 mm weit gereift und zeigte faden Geschmack; nach Zusatz von Kochsalz war der Geschmack jedoch normal. Der Geruch war infolge der wenig vorgeschrittenen Reifung nur schwach ausgeprägt, aber doch typisch. Das mikroskopische Bild zeigte neben den Hefezellen vereinzelte Milchsäurebakterien, die sich jedoch nicht färbten. Die Vermutung, daß dieses alte, durch Chloroform getötete Bakterien seien, wurde durch die Molkengelatinekulturen bestätigt. Bei 250 mikroskopisch untersuchten Kolonien war nicht ein einziger fremder Organismus zu finden; es war nur Kahlmhefe gewachsen.

Der gesalzene Käse wurde nach weiteren 4 Tagen, also nach 14-tägiger Reifung, untersucht. Er hatte schwachen Geruch und guten, normalen Harzkäsegeschmack. Er war infolge der tieferen Temperatur nicht soweit gereift, wie die Käse des vorstehenden Versuches.

Die bakteriologische Untersuchung zeigte im gefärbten Präparat ganz wenige Bakterien, etwa 0,1 Proz. Hefezellen. Die Molkengelatineplatten enthielten auf 500 Kahlmhefekolonien keine einzige Bakterienkolonie.

Die Versuche zeigen also, daß eine einzige Kahlmhefeart im stande ist, die normale Reifung des Sauermilchkäses zu bewirken. Je ein Käse in den Versuchen 2 und 4 war sicher nur durch das Hefewachstum gereift; bei allen anderen Käsen war die Infektion nur sehr gering, so daß derselben wegen der gleichartigen Reifung aller Käse keine wesentliche Einwirkung zugeschrieben werden kann.

#### Beschreibung der isolierten Organismen von Eckles.

*Oidium lactis*. Wächst in Bouillon in kleinen Mycelflocken, später mit Kahlmhaut, in Milchzuckerbouillon ebenfalls. In Gelatinestichkultur



bildet sich eine glatte, samtartige Haut über die ganze Oberfläche. Vom Stichkanal gehen feine Zweige horizontal. Langsame Verflüssigung. Die Agarstrichkultur zeigt eine samtartige Decke, die sich fast über die ganze Oberfläche verbreitet. Milch wird oberflächlich peptonisiert; sie reagiert amphoter.

*Oidium lactis cerebriforme*. [?] Hat dünneres Mycel und weniger und kleinere Oidien als *O. lactis*. Wächst in Bouillon mit und ohne Zucker mit Kahlhaut, die an der Glaswand klettert. Die Gelatinestichkulturen zeigen an der Oberfläche eine kleine, stark gefaltete, trockene Haut; die Gelatine wird schneller verflüssigt; im Stich ist das Hauptwachstum etwa 3 mm unter der Oberfläche. Die Agarstrichkultur ist eine dicke Auflagerung und macht den Eindruck einer mit weißem Pulver bestreuten Schleimmasse. Milch wird ziemlich stark peptonisiert und nach mehreren Wochen grobflockig koaguliert; sie reagiert ganz schwach sauer.

Milchzuckerhefe. 6–7  $\mu$  dick, rund oder ganz wenig länger als dick. Wächst in Bouillon als schwacher Bodensatz ohne Trübung. Milchzuckerbouillon beginnt nach 3–4 Tagen (30°) zu gären. Im Gelatinestich wächst sie in einzelnen Körnchen, ohne besonderes Oberflächenwachstum. Die Agarstrichkultur zeigt eine weiße, nicht charakteristische Auflagerung. Milch beginnt nach 3 Tagen (30°) zu gären und entwickelt noch nach 8 Tagen Kohlensäure. Reaktion ganz schwach sauer; starker Hefegeruch.

2 Hefen sind abgestorben.

2 Kahlhefen wurden als eine Art erkannt. Die Zellen sind von stark wechselnder Größe, von  $2,5 \times 3,5 \mu$  bis  $6,5 \times 13 \mu$ . In Bouillon wächst sie vorwiegend als Bodensatz, nach 1 Woche bildet sich eine sehr dünne Kahlhaut. Auf Milchzuckerbouillon ist schon nach wenigen Tagen kräftige Hautbildung bemerkbar. Im Gelatinestich mycelartiges Wachstum vom Stichkanal aus; oben eine kleine trockene Haut; in Molkengelatine ist das Wachstum mehr körnig. Die Agarstrichkultur gleicht derjenigen der Milchzuckerhefe. Milch wird nicht sichtlich verändert. Reaktion amphoter.

### Mikrokokken.

1) Brauner Coccus. Durchmesser 0,9–1,2  $\mu$ .

Wächst in Bouillon mit leichter Trübung ohne Sediment, ebenso in Milchzuckerbouillon. In Gelatine wächst er längs des ganzen Stichkanals, beginnt nach 4 Tagen an der Oberfläche die Gelatine zu verflüssigen und die Kolonien sind langsam hinab; die Kolonie hat eine braungelbe Färbung. Im Agarstrich entwickelt der Organismus einen breiten, schön braungelben, feuchtschleimigen Streifen, den man mit der Nadel in Fäden ausziehen kann. In Milch bildet er einen gelben Bodensatz, ohne sie sonst sichtbar zu verändern. Ganz alte Milchkulturen werden gelblich.

2) Gelber Coccus. Durchmesser 0,8–1  $\mu$ .

Der Coccus trübt Bouillon nicht, sondern wächst als dicker Bodensatz; in Milchzuckerbouillon wächst er schlechter. In Gelatine wächst er längs des Impfstichs. Auf der Oberfläche entwickelt er sich zu einer weichen zitronengelben Masse, ohne zu verflüssigen. Die Agarstrichkultur besteht aus einem schön hellgelben Belag. Milch wird nicht sichtlich verändert.

*Streptococcus*. Durchmesser 0,5–0,6  $\mu$

In Bouillon ist kein Wachstum bemerkbar, in Milchzuckerbouillon verursacht er leichte Trübung. Auf gewöhnlicher Gelatine und Agar gedeiht er nicht, auf Milchzuckeragarstrichkultur wächst er in Ketten bis zu 40 Zellen. Milch wird bei 37° in 2 Tagen durch Säurebildung zu einem festen Gerinnsel koaguliert, das sich nicht weiter verändert. Der *Streptococcus* stirbt sehr schnell ab.

*Micrococcus*. Durchmesser 0,6—0,8  $\mu$ .

Wächst nicht in Bouillon und gewöhnlichen Agarstrichkulturen. Verändert Milch nicht merklich. In Milchzuckerbouillon ruft er Trübung und flockigen Niederschlag hervor. In Gelatine wächst er nur im Stichkanal, nicht an der Oberfläche.

### Bacillen.

*Bacterium lactis acidi* Leichmann.

*Bacillus casei*  $\epsilon$  von Freudenreich.

*Bacillus lactis albus* Flügge.

*Bacillus*, 1,8—2,1  $\mu$  lang, 0,5—0,6  $\mu$  dick, unbeweglich, ohne Sporenbildung. Fäden bis zu 20 Zellen. In Bouillon verursacht er ein leichtes Sediment ohne Trübung, Milchzuckerbouillon wird dagegen getrübt. Die Agarstrichkultur zeigt eine dünne, schmale, weiße Auflage. In Gelatine wächst er ohne Verflüssigung längs des Impfstichs, aber nicht an der Oberfläche. Milch koaguliert bei 37° nach 10 Tagen infolge Säurebildung und verändert sich dann weiter nicht.

*Bakterium*, 1,2—2  $\mu$  lang, 1  $\mu$  dick, unbeweglich, ohne Sporenbildung; wächst meist in Ketten von 6—10 Zellen. Bouillon zeigt nur ein leichtes Sediment, die Milchzuckerbouillon wird getrübt. In Gelatine wächst er ohne Verflüssigung längs des Impfstichs, dagegen nicht an der Oberfläche. Die Agarstrichkultur ist ein schwacher, schmaler, weißer Streifen. Milch wird ganz schwach sauer, aber nicht koaguliert.

*Bakterium*, 1,2—1,5  $\mu$  lang, 0,9—1  $\mu$  dick, unbeweglich, ohne Sporenbildung; wächst nicht in Ketten. Bouillon wird getrübt und zeigt Bodensatz; in Milchzuckerbouillon ist sowohl Trübung wie Bodensatz bedeutend stärker. In Gelatine wächst er ohne Verflüssigung sowohl im Stichkanal wie an der Oberfläche, hier entwickelt sich ein dickes, weißes, feuchtschleimiges Polster. Die Agarstrichkultur zeigt einen dicken, breiten, weißen, feuchten Belag. Milch wird nicht sichtlich verändert, bekommt aber eine ganz leicht alkalische Reaktion.

Herrn Geheimrat Fleischmann sprechen wir für sein Interesse an dieser Arbeit unseren ergebensten Dank aus.

Nach der Beendigung dieser Arbeit erhielt ich die Arbeit von Eckles (Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz), welcher *Oidium lactis* als den Hauptfaktor der Harzkäsereifung bezeichnet. Die widersprechenden Resultate sind wohl darauf zurückzuführen, daß er mit saurer Milch, ich mit Käsemasse arbeitete.

Rahn.

## Originalreferate über Kongresse.

*Nachdruck verboten.*

Internationaler milchwirtschaftlicher Kongreß im  
Oktober 1905 zu Paris.

## Ueber meine Reinkulturen-Anwendungsmethode zur Herstellung des italienischen Grana-(Parmesan-)Käses.

Von Prof. Dr. Const. Gorini,

Direktor des bakteriologischen Laboratoriums an der Kgl. landw. Hochschule zu Mailand.

Seit dem Jahre 1901, wo ich den Lehrstuhl für Bakteriologie an der hiesigen Hochschule einnahm, befasse ich mich mit dem Studium des Grana-(Parmesan-)Käses, welcher bis dahin noch nicht vom bakteriologischen Standpunkte aus untersucht worden war. — Wie bekannt, bildet diese Käseart den Schwerpunkt der italienischen und im speziellen der lombardischen Hartkäseerei.

Diese Studien konnte ich, dank dem Entgegenkommen verschiedener Landwirte und Industrieller, welche mir die Herstellung dieses Käses zu verfolgen gestatteten, fortführen. Die bezüglichlichen Laboratoriumsforschungen habe ich seiner Zeit zum größten Teil in verschiedenen Zeitschriften veröffentlicht<sup>1)</sup>.

Auf diese Weise gelang es mir, die Herstellung der Käse mit selektionierten, aus den besten Käsen isolierten Gärungserregern zu erproben. Ich entschied mich, den Weg vollkommen zu verlassen, den andere Forscher einschlugen, um Laboratoriumskäse zu bereiten, was notgedrungen nur unter ganz anormalen Umgebungs-, Fabrikations- und Dimensionsverhältnissen erreichbar ist. Ich betrat dagegen den Weg ausschließlich praktischer Versuche, die ich unter den gewohnten technischen Verhältnissen mit dem üblichen Arbeiterpersonal, welches sonst bei der Granakäserei Verwendung findet, ausführte.

Um dies Ziel zu erreichen, habe ich mich auf eine, von Senator Julius v. Vigoni präsiidierte Vereinigung von Landwirten (welche den Namen: „Genossenschaft für die Studien über die rationelle Bereitung des Granakäses“ trägt), auf den Vorstand der Mailänder landwirtschaftlichen Hochschule und das italienische Agrikulturministerium gestützt. Mit deren Hilfe wurde eine Versuchskäserei in Trenno bei Mailand organisiert, wo ich von Juli 1903 ab verschiedene Reihen von Käsen mit den aus diesem Laboratorium stammenden Reinkulturen erzeugen konnte (im ganzen über 150 Paare von Formen). Zu bemerken ist, daß diese Versuche gerade in den Sommermonaten vorgenommen wurden, in welcher Jahreszeit es überaus schwer ist, den Parmesankäse sorgfältig zu bereiten. Die Käse wurden in der üblichen Größe (durchschnittlich 28—30 kg für jedes Stück) mit Hilfe eines gewöhnlichen empirischen Granakäasers und mit der gewohnten Technik hergestellt, in

1) 1. Ueber die Verteilung der Bakterien im Granakäse. (R. Ist. Lomb. di Sc. e Lett. 15. Nov. 1903. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 78.) 2. Ueber die Gegenwart von säureabbildenden Bakterien beim reifenden Käse. (R. Ist. Lomb. di Sc. e Lett. 3. Nov. 1904. Milchwirtschaft. Centralbl. Bd. I. 1905. p. 494.) 3. Das Salzbad im Käsebetrieb, bakteriologisch betrachtet. (Agricoltura Moderna. Vol. X. 1904. No. 47. — Molkerzeitung. Berlin 1904. p. 625.) 4. Sull' azione di determinati bacteri nelle fabbricazione del formaggio di grana. (Annuario della Soc. chimica di Milano. Vol. XI. 1905. Fasc. 2.) 5. Sulla flora bacterica del formaggio di grana. (R. Accademia dei Lincei. 7 Settembre 1905.)

der Weise, daß man je eine doppelte Serie von Käsen erhielt, von welchen die eine mit Reinkulturen und die andere ohne solche hergestellt war.

Es wurde nichts versäumt und alle Vorkehrungen wurden getroffen, um jedes Käsepaar in ganz gleicher Weise zu behandeln und aufzubewahren, damit die beiden Stücke sich in allem gleich blieben, mit Ausnahme des Zusatzes der Gärungserreger. Die Käserei stand unter beständiger und unmittelbarer Ueberwachung eines Aufsichtsrates, bestehend zum Teil aus Granafabrikanten und -kaufleuten. Von Zeit zu Zeit unterbreitete der Aufsichtsrat die Produktion der Käserei speziellen Fachexperten zur Begutachtung, welche, ohne die Methode verfolgt zu haben, die Käse untersuchten und sie nach ihrer Qualität klassifizierten.

Als die Preisrichter ihr Urteil abgaben, wußten sie nicht, welche die geimpften und welche die Kontrollkäse waren. Vor dem Beginn der Prüfung hatte man den Herren ein versiegeltes Kuvert übergeben, worin sich die Namen der geimpften und der nicht geimpften Käse befanden. Erst nach der Prüfung aller Stücke wurde das Kuvert geöffnet.

Der Grana ist eine Käsetypus, der sehr langsam ausreift; die Reife kann 4—5 Jahre dauern. Aus diesem Grunde kann ich hier kein Endresultat meiner Arbeit vorlegen; es ist jedoch genügend Zeit verstrichen, um ohne Bedenken behaupten zu können, daß die mit Reinkulturen hergestellten Formen durchweg von besserer Qualität sind als die Kontrollkäse.

Die Prüfungen wurden nach der Punktmethode vorgenommen; die Ergebnisse einer der letzten Prüfungen sind folgende: Eine Reihe von 30 mit Gärungserreger hergestellten Käsen erhielt 208, 182, 207 Punkte, die Gegenstücke dagegen nur 160, 149 und 146 Punkte, je nach dem Preisrichter. Ferner geht aus einer Abschätzung, die ich ausführlich dem Kongresse vorlegte, hervor, daß Ende Juli 1905 von 35 Paar Formen, welche im Sommer 1904 erzeugt worden waren, die mit Reinkulturen hergestellten einen Geldwert von 962 it. L. hatten, während die Kontrollkäse nicht mehr als den Wert von 689 it. L. erreichten.

Die Experten fügten in ihrem Berichte hinzu, daß „der innere Wert des Teiges der mit Reinkulturen erzeugten Käse immer höher ist als derjenige der Kontrollformen“.

Die von mir angewandte Methode, die schon in meinen Berichten an den Präsidenten der vorgenannten Gesellschaft beschrieben ist <sup>1)</sup>, besteht in:

- 1) hygienischer Behandlung;
- 2) selektionierten Gärungserregern, welche in rohe, d. h. weder sterilisierte noch pasteurisierte Milch geimpft werden.

Der mich dabei leitende Gedankengang kann, wie folgt, zusammengefaßt werden:

A. Ich meine, daß man, sobald die Systeme des Pasteurisierens der Milch die nötige Vollkommenheit erreicht haben werden, und sobald unsere Kenntnisse der Reifungsfaktoren der Käse den erforderlichen Höhepunkt erlangt haben werden, den Granakäse auch aus pasteurisierter Milch wird studieren können. Bei dem heutigen Stande der Dinge ist es jedoch angemessener, sich auf die Einimpfung von Reinkulturen in die rohe Milch zu beschränken.

B. Ferner muß man, wenn man aus Reinkulturen den ganzen Vorteil ziehen will, den sie zu schaffen berufen sind, die Verwendung der

<sup>1)</sup> Bericht für das Jahr 1903. Milano (Tip. Agraria. 1904.) Bericht für das Jahr 1904. (Bollettino Ufficiale del Ministero di Agricoltura. Roma 1905.)

Gärungserreger mit einer hygienischen Behandlung im Stalle und in der Käserei verbinden.

C. Ich bin endlich der Ansicht, daß zur Verallgemeinerung dieser Methode die vernünftige Mithilfe sowohl der Milchproduzenten als auch der Milcharbeiter notwendig ist, welche ihre Arbeit an folgende Prinzipien anknüpfen müssen, die selbst aus meiner Käsereipraxis herrühren:

I. Die Bedingungen des Gelingens der Käse sind drei:

- 1) gute Milch;
- 2) gute Behandlung;
- 3) gute Gärungserreger.

II. Die ersten zwei Bedingungen werden bereits zum großen Teil von den Landwirten und den Milchbearbeitern befolgt. Für sie sorgt die Zootechnik, die Chemie und die Käsereitechnik.

III) Die dritte Bedingung war aber bisher dem Zufall preisgegeben. Hier Abhilfe zu schaffen, sind die Hygiene und die Mikrobiologie (hygienische Behandlung und selektionierte Gärungserreger) berufen.

Um diese neuen Käsereigrundsätze in der Praxis zu verbreiten, haben sich die Industriellen und die Landwirte der Lombardei zu einer Genossenschaft, die den Namen: „Bakteriologisches Laboratorium für die Milchindustrie“ trägt, vereinigt, deren Mitglieder sich verpflichten, diese Reinkulturen in Verbindung mit dem unter meine Leitung gestellten Laboratorium in ihren Käsereien zur Anwendung zu bringen, um „viribus unitis“ aus Wissenschaft und Praxis nach der neuen Methode alle die Vorteile zu erreichen, die möglich sind, und um alle möglichen Vervollkommnungen einzuführen nach den verschiedenen Milch-, Fabrikations- und Umgebungsverhältnissen.

8. Dezember 1905.

---

## Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

*Nachdruck verboten.*

### Bakteriologisches Laboratorium der Linnean Society of New South Wales<sup>1)</sup>.

Von R. Greig Smith, Sydney.

#### Der Schleim von *Dematium pullulans*.

Während der Untersuchungen über die Ursachen des Gummiflusses bei Pfirsichen und Mandeln wurde ein Pilz isoliert, welcher sich bei näherer Untersuchung als *Dematium pullulans* zu erkennen gab. Dieser Pilz wurde von Massee als der Erzeuger der Gummosis (? Gummifluß) bei Pflaumen angesehen, und Wortmann behauptete, daß er den schleimigen Zustand des Mostes und des Weines verursache. Es ist bekannt, daß er die zähe Konsistenz der ungehopften Bierwürze bewirkt.

Dieser Pilz wuchs auf der Oberfläche von Saccharose-Kartoffel-Agar und in flüssigen Saccharose-Pepton-Medien. Es war ziemlich schwer, den Schleim von den Häutchen, die sich auf dem Agar gebildet hatten,

1) Diese Untersuchungen sind eingehend in den Proceedings of the society (1903 und 1904) beschrieben.

zu trennen, und man griff zu dem Hilfsmittel, die Kultur mit heißer 1-proz. Salzsäure zu behandeln. Diese löste zwei Gummiarten auf, von denen die eine in verdünntem Alkali löslich war. Die andere war unlöslich. Das in Wasser und Alkali lösliche Gummi ließ sich leicht in eine Mischung von Galaktose und einer Glykose hydrolysieren. Das in Alkali unlösliche Gummi ließ sich nicht hydrolysieren bei Anwendung von 5-proz. Schwefelsäure. Die Saccharose-Pepton-Flüssigkeitskultur wurde von den schwimmenden Häutchen u. s. w. durch Filtrieren getrennt, und das Gummi wurde mit Alkohol niedergeschlagen. Schließlich wurde ein Gummi erhalten, das in verdünntem Alkali unlöslich war und das sich bei Anwendung von 5-proz. Schwefelsäure nicht hydrolysieren ließ. Das in Alkali lösliche Gummi war nicht vorhanden. Die beiden in Alkali unlöslichen Gummiarten waren dieselben und ließen sich in eine Mischung von Arabinose und Galaktose bei Anwendung von konzentrierter Schwefelsäure hydrolysieren. Man erhielt ein Pararabin. Das in Alkali lösliche Gummi, das in Galaktose und Glykose hydrolysierte, entstand wahrscheinlich infolge der Wirkung von verdünnter Säure auf das Nukleoproteid des Mycels.

Da weder Arabin noch auch Metarabin im Gummi vorhanden war, so kann *Dematium pullulans* auf die Entstehung des Gummi-flusses bei dem Mandel- oder Pfirsichbaume keinen Einfluß haben, und wahrscheinlich auch bei keinem anderen Baume, welcher Gummi liefert.

#### Ein veränderliches Galactan-Bakterium.

Ein Organismus, dem ich den Namen *Bacterium atherstonei* gegeben habe, wurde aus den Geweben von *Strychnos atherstonei* isoliert. Er ist interessant wegen der Schnelligkeit, mit der er seine schleimbildende Eigenschaft änderte. Ursprünglich bildete er ein unlösliches Gummi, indem die Kolonien auf festem Nährboden als hohe, transparente, brüchige, unregelmäßige Massen wuchsen. Er brachte bei Zimmertemperatur langsam, aber schnell bei höherer Temperatur (24 Stunden bei 30°) eine lösliche Abänderung des Gummis hervor. Die Kolonien bildeten dann opake, blaßgelbe, glänzende Auswüchse. Der Gummi zeigte sich als ein Galactan.

#### Der Verlust an Farbe bei roten Weinsorten.

Proben von nicht süßen, roten australischen Weinen, welche, der Luft ausgesetzt, einen schwarzen, pulverartigen Niederschlag geben (*vin tourné*), enthielten ein Bakterium, welches mit *Bact. ascendens* Henneberg identisch zu sein schien. In Gefäßen mit roten Weinsorten, in denen das Bakterium ausgesät war, nahm die Farbe in 10 Tagen und bei 22° um 16 Proz. ab und die Essigsäure gewann an 2,91 Proz. In anderen Versuchen, die im Laboratorium unter verschiedenen Bedingungen ausgeführt wurden, vollzog sich nicht der plötzliche Niederschlag von Farbstoff, welcher für die Krankheit so charakteristisch ist. Wenn es aber richtig ist, was Lafar sagt, nämlich, daß eine Anzahl von Bakterien-species nötig ist, um die verschiedenen Erscheinungen hervorzurufen, so ist es möglich, daß die Essigbakterien unter den herrschenden Verhältnissen in den Lagerfässern langsam eine Oxydase secernieren. Unter Einfluß der Luft ist der Farbstoff des Weines schnell durch das Enzym oxydiert.

#### Die rote Faser des Zuckerrohres.

Das Vorkommen von roten gefärbten Gefäßfasern beim Zuckerrohr

ist durchaus nicht unbekannt. Die Erscheinung scheint mehrere Krankheiten des Rohres zu begleiten und gleichzeitig können augenscheinlich gesunde Rohrstengel die Färbung zeigen. Zu diesen Krankheiten gehören: 1) Die Sereh-Krankheit, hinsichtlich deren Entstehungsursachen viele Zweifel bestehen. 2) Die Zuckerrohrkrankheit von Massee, welche von *Trichosphaeria sacchari* Massee hervorgerufen wird und eine ähnliche Krankheit, die Ananaskrankheit des Rohres, welche nach Went durch *Thielaviopsis ethacetica* verursacht wird. 3) Der rote Brand des Zuckerrohres, der von *Colletotrichum falcatum* Went bewirkt wird und der ohne Zweifel mit Cobbs Red Rot des Zuckerrohres identisch ist.

Die Beispiele an roten Fasern, welche ich untersucht habe, gehörten jedoch zu keiner dieser Krankheiten, denn sie zeigten sich sowohl an sonst gesunden Exemplaren als auch an von der Gummosis befallenen Pflanzen (*Bact. vascularum* Cobb).

Die erste Probe war ein sonst gesundes Rohr mit drei oder vier gefärbten Bündeln, welche sich durch das ganze Internodium ausdehnten.

Ein Querschnitt zeigte, daß die Färbung bedingt war durch die Gegenwart eines roten Gummis in den großen Gefäßen. Ein rotes Gummi ist ebenso gefunden in der Sereh-Krankheit und in einem roten Rost. Bei beiden ist nach Went das Gummi nicht von Bakterien hervorgerufen. In anderen Fällen waren die Rohrstengel ohne Zweifel von Gummosis befallen. In allen diesen Fällen erhielt man einen Pilz und mehrere Bakterien.

In Nährmedien mit Dextrose rief der Pilz eine glänzende, hoch scharlachrote Farbe hervor, und er war ohne Zweifel der Faktor, welcher ursprünglich für die Färbung der Fasern verantwortlich zu machen ist. Er produziert aber nicht Gummi und Gummibakterien waren ebenfalls in den Gefäßen gegenwärtig. Die Gesamterscheinung des roten Gummis kam daher zu stande durch das gleichzeitige Wachstum von zwei Organismen, einem Pilz und einem Bakterium. Jeder Teil des roten Gefäßbündels enthielt jedoch nicht den Pilz; er enthält aber Gummi oder Schleimbakterien. Daraus muß man folgern, daß der Pilz das Gummi nicht auf der ganzen Ausdehnung der gefärbten Faser begleitet; sondern daß er das Gummi färbt, das vielleicht durch den Saftdruck, vielleicht auch infolge des Wachstums der Bakterien die Gefäße entlang geführt wird. Das schnelle Wachstum der Bakterien mag das Absterben des Pilzes veranlassen, nachdem der Farbstoff produziert ist. Zwei Dinge sind sicher: 1) Der Pilz kann unter bestimmten Umständen Farbstoff und kein Gummi produzieren, und 2) Die Bakterien können nicht den Farbstoff, aber das Gummi produzieren.

Die Schleim- oder Gummibakterien, welche mit dem Auftreten des Pilzes in Verbindung standen, waren *Bacillus pseudarabius* n. sp., *Bact. sacchari* (diese Art bewohnt, wie ich schon gezeigt habe, normalerweise das Zuckerrohr) und *Bact. vascularum*, das Bakterium der Gummosis. Der Schleim von *Bac. pseudarabius* ist physikalisch dem von *Bact. vascularum* ähnlich und ist wohl geeignet, die Gefäße der Bündel zu verstopfen. Auf Platten von Nähragar mit Lävulose produzierte der Pilz keinen Farbstoff; aber in Kombination mit *Bac. pseudarabius* wurde ein brillanter, scharlachroter Farbstoff gebildet, der in das Medium diffusierte. In Kombination mit *Bact. sacchari* wurde eine rostbraune Farbe produziert. Mit *Bact. vascularum* war die Farbe nicht so glänzend als mit *Bac. pseud-*

arabinus. Auf kurz vorher sterilisierten Scheiben von Rohrzucker produzierte der Pilz und der *Bac. pseudarabinus* ein glänzend rotes Gummi, das sich nach unten in den großen Gefäßen der Bündel ausbreitete. Aus diesen und anderen Beobachtungen folgere ich, daß die rote Faser die Folge ist von dem gleichzeitigen Wachstum des Pilzes und eines schleimbildenden Bakteriums, z. B. des *Bac. pseudarabinus*.

Es war mir nicht möglich, den Pilz zu identifizieren, aber in der Originalabhandlung<sup>1)</sup> sind Zeichnungen und Photographien von vielen Entwicklungsstadien gegeben. Er bildete schwarze Perithezien auf sterilisierten Kartoffelscheiben. Während seiner Entwicklung geht der Pilz durch ein Asci besitzendes Stadium. Wenn er aber vollkommen reif ist, so scheint er zu den Sphaeropsidae zu gehören und mit *Phoma* verwandt zu sein; er unterscheidet sich aber durch die Abwesenheit von Konidiophoren am Perithecium.

*Bac. pseudarabinus* produzierte auf passenden Medien von Saccharose einen Schleim, der ein Gummi lieferte. Dieses gab die Reaktion von Arabin; wurde aber in Galaktose hydrolysiert, so daß es sich um ein Galaktan handelt.

Die vom Zuckerrohr erhaltene Rasse wuchs als weiße Kolonien auf gewöhnlichen Medien. Eine Rasse desselben Organismus wurde von der Quitte isoliert; sie zeigte aber darin einen Unterschied, daß sie gelbe Kolonien bildete. Die bezüglichen Farben der Kolonien dieser Rassen sind beständig.

Kürzlich hat Erwin F. Smith (dieses Centralblatt. Bd. XIII. p. 729) eine Rötung der Gefäßfasern bemerkt, besonders an den Knoten des „Common Green Cane“. Er betrachtet diese als ein Symptom von Gummosis. Bei Nachforschungen finde ich Beweise dafür und dagegen. Wahrscheinlich zeigen gewisse Rohrvarietäten die Erscheinung und andere nicht. Ich erinnere mich nicht, die Färbung bei „Rappoe“ Rohr bemerkt zu haben, und ich bin fast sicher, daß ich kurze, gefärbte Fasern in den Knoten des immunen „Purple Tanna“ gesehen habe. Die Rötung der Fasern, welche den Gegenstand der gegenwärtigen Untersuchung bildete, breitet sich von einem Knoten zum anderen aus und tritt besonders stark hervor in den Internodien.

#### Die durch Bakterien veranlaßte Entstehung des *Macrozamia*-Gummi.

Das Gummi, welches gelegentlich von *Macrozamia spiralis* ausgeschieden wird, besteht nach den vorhandenen Beschreibungen hauptsächlich aus Metarabin oder Cerasin. Eine Probe, welche ausgeschwitzte war an einer Pflanze des Gartens der Gesellschaft, enthielt kein Metarabin. Es zeigte sich, daß sie aus einem einzelnen Gummi bestand, dessen Schleim durch Alkohol, basisches Bleiacetat und Bariumhydrat koaguliert wurde. Er wurde dick unter der Einwirkung von neutralem Bleiacetat und Fehlings Lösung. Bei Hydrolyse gab er einen reduzierenden Zucker, der ein Osazon lieferte, das nach Reinigung bei 184° schmolz. Die Verunreinigung bestand aus unbestimmten Osazonen, welche leicht durch die Lösung von Phenylhydrazin und selbst durch Essigsäure zersetzt werden, indem sie amorphe oder teerige, in Aether

1) Proceedings of the Linnean Society of New South Wales. 1904. (3). p. 449—459.



lösliche Körper bilden. Sie werden aus allen vegetabilen Gummiarten erhalten und, da Furfurol bei Hydrolyse abgegeben ist, so gehören sie wahrscheinlich der Furfurangruppe an. Obgleich das Gummi bei Oxydation Schleim- und Oxalsäure lieferte, so konnte Galaktose nicht gefunden werden.

Aus den Geweben der Pflanze wurde ein Bakterium isoliert und man erhielt einen Schleim in Kulturen auf Lävulose-Asparagin-Tannin-Agar. Wenn der Schleim im Autoklaven erhitzt wurde, so lieferte er ein Gummi, das Reaktionen zeigte, welche fast identisch waren mit denen des natürlichen Gummis. Der Unterschied bestand darin, daß ein Verdicken mit neutralem Bleiacetat oder mit Fehlings Lösung nicht erhalten wurde.

Nach einem Verlauf von ungefähr 6 Monaten wurde eine frische Menge von Gummi präpariert. Es gab die Reaktion von Arabin. Früher hatte Bariumhydrat einen Niederschlag hervorgerufen, und Eisenchloryd nicht; jetzt gab Bariumhydrat keinen Niederschlag, und Eisenchloryd ließ ein braunes Klümpchen entstehen. Die Natur des Gummis war also, während das Bakterium unter Laboratoriumsbedingungen gelebt hatte, verändert worden. Das Gummi lieferte dieselben Oxydationsprodukte und gab während der Hydrolyse Furfurol ab. Es wurde auch in dieselben reduzierenden Substanzen hydrolysiert, von denen ein Osazon von demselben Schmelzpunkt ( $184^{\circ}$ ) erhalten wurde. Wir müssen daraus folgern, daß das Gummi, daß das Bakterium bildet, dasselbe ist, wie das, welches an der Pflanze ausgeschwitz wird, und daß sich infolge der Tätigkeit des Bakteriums in den Geweben von *Macrozamia* der Gummifluß zeigt.

Wie die meisten Bakterien, welche Gummifluß in Pflanzen hervorgerufen, erscheint der Mikroorganismus als ein kurzer Stab von ungefähr  $1\ \mu$  Länge. Er ist beweglich und die Beweglichkeit wird durch zahlreiche peritriche Wimpern hervorgerufen; er verhält sich der Gramschen Färbemethode gegenüber negativ und bildet keine Sporen. Die Kolonien sind weiß und etwas warzenförmig. Gelatine wird nicht verflüssigt und Gas wird produziert in Medien, welche Dextrose und Saccharose enthalten. Ich habe ihn *Bacillus macrozamia* genannt.

#### Aus dem Institut für Gärungsgewerbe in Berlin.

**Lindner, P.**, Die Assimilierbarkeit der Selbstverdauungsprodukte der Bierhefe durch verschiedene Heferassen und Pilze. Mitteilung I. Nach Versuchen von Dr. Rülke und Dr. H. Hoffmann. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XXII. No. 40. p. 528–530.)

Bei der Selbstverdauung der Hefe findet eine Spaltung der Hefeiweißstoffe statt, bei welcher als Spaltungsprodukte im allgemeinen dieselben Stoffe erhalten werden, wie bei der Hydrolyse anderer Eiweißstoffe, nur ist infolge des reichlichen Vorkommens von Nukleinen in der Hefe der Gehalt an Alloxurbasen ein beträchtlicher. Verf. sucht durch Kulturversuche festzustellen, welche dieser Spaltungsprodukte von verschiedenen Heferassen und Pilzen als Stickstoffnahrung wieder nutzbar gemacht werden können. An Spaltungsprodukten gelangen zur Untersuchung: Tyrosin, Leucin, Adenin, Hypoxanthin, Histidin (als Chlorhydrat), Urazil, Asparaginsäure, Arginin, Guanidin (als Chlorhydrat), Lysin,

**Cholin, Thymin.** Vergleichsweise wurden ferner Kulturen mit Asparagin, mit Kaliumnitrat und mit Ammonsulfat und eine Kontrollplatte ohne Stickstoffnahrung angelegt. Als Nährböden dienten Agarböden, die pro Liter 100 g Dextrose, 20 g Agar und 20 g Minerallösung (50 g  $K_2HPO_4$  + 17 g  $MgSO_4$  auf 1 l) enthielten. Auf je 60 g Agar wurde 0,2–0,3 g der zu untersuchenden Substanz pro Platte genommen. Von Mikroorganismen wurden in den Kreis der Untersuchung gezogen: *Saccharomyces cerevisiae* untergärig, Brennereihefe Rasse XII obergärig, *S. turbidans*, *S. exiguus*, Logoshefe, *Schizosaccharomyces Pombe*, *Sch. octosporus*, *Saccharomyces Ludwigii*, *Hansenia apiculata*, *Mycoderma*, *Willia belgica*, *Pichia membranaefaciens*, *Saccharomyces hyalosporus*, *S. farinosus*, *Oidium lactis*, *Endoblastoderma salminicolor*. Die Ergebnisse, welche durch eine photographische Tafel und eine Tabelle erläutert werden, lassen sich, wie folgt, zusammenstellen: Am kräftigsten assimilierte *Endoblastoderma*, die sich sogar auf Kaliumnitrat gut entwickelte, von den übrigen Organismen assimilierten am besten die luftliebenden keine Gärung erregenden Pilze, dann folgen die Nachgärungshafen wie vor allen *Saccharomyces turbidans* und weiter die Kulturbierhefe selbst. Zwischen untergäriger Bierhefe und obergäriger Brennereihefe waren größere Unterschiede im Assimilationsvermögen nicht zu beobachten, nur Leucin gegenüber zeigte Brennereihefe eine etwas stärkere Reaktion. Sehr geringes resp. gar kein Assimilationsvermögen war bei *Schizosaccharomyces Pombe*, *Saccharomyces exiguus*, *S. Ludwigii*, *Hansenia apiculata* zu beobachten. Die Versuche sollen fortgesetzt werden. Mohr (Berlin).

**Lange, H. und Lühder, E.,** Stickstoffbilanz in der Preßhefenfabrikation. (Brennereizeitung. Bd. XXII. p. 3797–3798. No. 646.)

Nachdem durch die Arbeiten von Iwanoff wahrscheinlich gemacht worden war, daß eine Stickstoffabgabe an die gärenden Flüssigkeiten durch gesunde lebende Hefe nicht oder nur in ganz geringem Maße stattfindet, haben Verf. die älteren Angaben über die Rolle und den Verbleib der Stickstoffkörper in gärenden Maischen der Preßhefenfabrikation nachgeprüft. Es wurde bestimmt der Gesamtstickstoff und der lösliche Stickstoff der Rohmaterialien und nach beendeter Gärung wurden Gesamt- und löslicher Stickstoff in den Produkten, in Hefe, Trebern und vergorener Würze wiedergesucht. In zwei im großen angestellten Versuchen wurden vom gesamten eingemaischten Stickstoff wiedergefunden:

in der Hefe	13,3 Proz.	resp.	17,0 Proz.
„ den Trebern	57,0	„	51,8
„ der vergorenen Würze	28,0	„	27,8
der Berechnung entzogen sich	1,7	„	3,4

Demnach gingen vom Gesamtstickstoff für die Hefebildung 86,7 resp. 83,0 Proz. verloren. Der zur Hefebildung nutzbar gemachte Stickstoff entstammte ausschließlich dem löslichen Stickstoff der Maischmaterialien, die Fähigkeit, den ungelösten Stickstoff nutzbar zu machen, hat die Hefe nicht. Auch die Ausnutzung des löslichen Stickstoffs durch die Hefe ist nur eine mangelhafte, bei dem einen Versuch wurden nur 32,4 Proz., beim anderen nur 37,8 Proz. des vorhanden gewesenen löslichen Stickstoffs zur Hefebildung nutzbar gemacht. Verff. stellen weitere Untersuchungen in Aussicht, in welcher Weise eine bessere Stickstoffausnutzung erzielt werden kann. Mohr (Berlin).

## Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

### Allgemeines.

- Bericht über die wissenschaftlichen Leistungen im Gebiete der Entomologie während des Jahres 1903. 1. Lief.: Insecta: Allgemeines und Coleoptera v. Geo. Seidlitz. Berlin (Nicolai) 1905. 356 p. 8°. 28 M.
- Zweiter Bericht der kgl. Württembergischen Weinbau-Versuchsanstalt Weinsberg über ihre Tätigkeit im Jahre 1904 an das kgl. Ministerium des Kirchen- und Schulwesens und an die kgl. Zentralstelle für die Landwirtschaft, erstattet von Prof. Dr. Richard Meissner. Weinsberg 1905. 88 p. 8°.
- Weiss, J. E.**, Der Pflanzenarzt. Praktischer Ratgeber für Landwirte, Obstbaumbesitzer und Gemüsegärtner behufs rationeller Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten. Stuttgart (Ulmer) 1905. 184 p. 45 Fig. (Des Landmanns Winterabende. Bd. LXXIX.)

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Dreuw, H.**, Neuere Methoden zur bequemen Kultur von Schimmel- und Spaltpilzen und zur Mikrophotographie derselben. (Med. Klinik. Jg. I. 1905. N. 51. p. 1319—1323. 4 Fig.)
- Kern, Ferdinand**, Bemerkung zu Dr. Leo Buergers Abhandlung: Eine neue Methode für Kapselfärbung der Bakterien; zugleich ein Beitrag zur Morphologie und Differenzierung einiger eingekapselter Organismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. Heft 1. p. 175.)
- Meissner**, Ueber die Entfärbung von Alkohol, welcher durch Blattgrün (Chlorophyll) grün gefärbt ist. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 8. p. 124—125.)
- Simonelli, Francesco** und **Bandi, Ivo**, Ueber eine rasche Färbungsmethode von *Spirochaete pallida*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. Heft 1. p. 159—162.)

### Systematik, Morphologie.

- Hottinger, B.**, Ueber das Verhältnis des *Bacillus suipestifer* zur Schweinepest. (Schweizer Arch. f. Tierheilk. Bd. XLVII. 1905. Heft 5. p. 255—259.)
- Mesnil, F.** et **Caullery, M.**, Comparaison des cycles évolutifs des Orthonectides et des Dicyémides. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 32. p. 431—433.)
- Böhling, A.**, Morphologische und physiologische Untersuchungen über einige Rassen des *Saccharomyces apiculatus*. (2. Ber. d. kgl. Württ. Weinbau-Versuchsanst. Weinsberg üb. ihre Tätigkeit i. Jahre 1905. p. 67—68. [Diss. phil. Erlangen 1905.]
- Sabrazès, J.** et **Muratet, L.**, Fréquence des Trypanosomes chez *Mus rattus*. Rareté chez *Mus decumanus* et chez *Mus musculus*. Résistance du *decumanus* et du rat blanc à l'infestation naturelle. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 32. p. 441—443.)
- Vanderyst, Hyac.**, Prodrome des maladies cryptogamiques belges. 2. Ustilagineae. (Bull. de l'agric. T. XXI. 1905. Livr. 4. p. 583—632. M. Fig.)

### Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc).

- Aderhold, Rud.**, Zur Biologie und Bekämpfung des Mutterkorns. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. V. 1905. Heft 2. p. 31—35.)
- Buchner, Eduard** und **Gaunt, Rufus**, Neue Versuche über die Oxydase der Essigbakterien. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 48. p. 709—710.)
- Dawson, H. W.**, Der Mechanismus der Enzym- und Fermentwirkung. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 46. p. 677—680. [Journ. of the Inst. of Brewing 1905. p. 288.]
- (**Harden, Arthur**), Ueber die Zymase und die alkoholische Gärung. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 48. p. 712—715. [Journ. of the Inst. of Brewing 1905. p. 2.]
- Hayduck, Fritz**, Ueber die Bedeutung des Eiweiß im Hefenleben. [Schluß.] (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 46. p. 661—665.)
- Kaserer, Hermann**, Ueber die Oxydation des Wasserstoffes und des Methans durch Mikroorganismen. [Vorl. Mitt.] (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VIII. 1905. Heft 8. p. 789—794.)
- Kossowicz, Alexander**, Ueber das Verhalten der Bakterien zu Sinigrin. Das Sinigrin als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle. Die bakterizide Wirkung des Senföls. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VIII. 1905. Heft 7. p. 645—653.)

- Lagerheim, G.**, Baltiska Zooecidier. (Ark. f. Bot. Bd. IV. 1905. N. 10. 27 p. 1 Taf.)
- Maassen, Albert**, Ueber Gallertbildungen in den Säften der Zuckerfabriken. Ein Beitrag zur Kenntnis der gallertbildenden Bodenbakterien. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. V. 1905. Heft 2. p. 1—30. 3 Taf. u. 1 Fig.)
- Malenković, Basilius**, Ist Holz durch Bakterien vergärbar? (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VIII. 1905. Heft 10. p. 852—860.)
- Meisenheimer, Jakob**, Die Chemie der Gärungserscheinungen. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVIII. 1905. N. 46. p. 433—435.)
- Mereshkowsky, S. S.**, Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal. Acidophile Bakterien. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. Heft 1. p. 118—129.)
- Ueber die Zerstörung und Bildung von Milchsäure durch Organismen. (2. Ber. d. kgl. Württ. Weinbau-Versuchsanstalt Weinsberg über ihre Tätigkeit i. Jahre 1905. p. 69—85.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

#### Luft, Wasser, Boden.

- Eijkman, C.**, Zur Reinigung des Trinkwassers mittels Ozon. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. Heft 1. p. 155—159.)
- Kayser, M. E.**, Les microbes du sol. (Ann. de la sc. agron franç. et étrangère. Sér. 2. Année X. 1905. T. I. Fasc. 3. p. 432—449.)

#### Nahrungsmittel.

- Liebreich, Oskar**, Zur Frage der Bor-Wirkungen. Eine Kritik des Dr. Wileyschen Berichtes an das Amerikanische Ackerbau-Ministerium. Berlin (Hirschwald) 1906. 51 p. 4 Taf. 8°. 4 M.
- Matthes, Heinrich**, Die Nahrungsmittelverfälschung und die Maßregeln zu ihrer Bekämpfung. Weimar (Böhlau) 1905. 13 p. 8°. (Weimar. Ztg.) —, 30 M.
- Müller, Alb.**, Die Wissenschaft in der Konservenindustrie. (Konserven-Ztg. Jg. 1905. N. 46. d. 529—530.)

#### Fleisch.

- Ostertag, Robert**, Bibliographie der Fleischbeschau. Zugleich Ergänzung zum Handbuch der Fleischbeschau dess. Verf. Stuttgart (Enke) 1905. XVI, 446 p. 8°. 13 M.

#### Milch, Molkerei.

- Adorján, Josef**, Der Wert der Nitratreaktion zur Erkennung des Wässerns der Milch. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VIII. 1905. Heft 10. p. 846—851.)

## Inhalt.

### Originalmittellungen.

- Eckles, C. H. und Bahn, Otto**, Die Reifung des Harzkäses. II, p. 726.
- Fuhrmann, Franz**, Die Kernteilung von *Saccharomyces ellipsoideus* I Hansen bei der Sproßbildung, p. 709.
- Kohn, Eduard**, Zur Biologie der Wasserbakterien. (Schluß), p. 717.

### Originalreferate über Kongresse.

- Gorini, Const.**, Zur rationellen Herstellung des italienischen Grana-(Parmesan-) Käses, p. 731.

### Originalreferate aus bakteriol. u. gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

- Smith, Greig E.**, Bakteriologisches Laboratorium der Linnean Society of New South Wales, p. 733.

Aus dem Institut f. Gärungsgewerbe, Berlin.

- Lange, H. und Lühder, E.**, Stickstoffbilanz in der Preßhefenfabrikation, p. 738.
- Lindner, P.**, Die Assimilierbarkeit der Selbstverdauungsprodukte der Bierhefe durch verschiedene Heferassen und Pilze, p. 737.

**Neue Litteratur**, p. 739.

# Inhaltsverzeichnis.

## I. Verzeichnis der in Band XV enthaltenen Arbeiten.

- Aderhold, Rud.**, Impfversuche mit *Thielavia basicola* Zopf 276  
 — und **Ruhland, W.**, Ueber ein durch Bakterien hervorgerufenes Kirschensterben. (Vorläufige Mitteilung.) (*Orig.*) 376  
 — —, Zur Kenntnis der Obstbaumaklerotinien. 275  
**Agrikulturbotanische Anstalt, Kgl., in München**, Ueber die Getreideroste, unter besonderer Berücksichtigung ihres Auftretens im Jahre 1904. 483  
**Antoni, W. s. Buchner, Ed.**  
**Arthur, J. C.**, Cultures of Uredineae in 1904. 650  
 —, Terminology of the spore structures in the Uredinales. 650  
**Barbey, A.**, Biologische Beobachtungen an *Hylastinus fankhauseri* Reitter, dem Borkenkäfer des Goldregens. 495  
**Barlow, B. s. Harrison, F. C.**  
 — s. Harrison, J. C.  
**v. Bassewitz**, Ueber die Bekämpfung des Kienzopfes. 501  
**Bassu, E.**, Sul fenomeno dell' anaerobiosi 644  
**Baumann, Ernst**, Ueber die Konservierung der Milch durch Wasserstoffsuperoxyd 663  
 —, Bemerkungen zu der Arbeit von Mstislav Lukin, Moskau: Experimentelle Untersuchungen über Sterilisierung der Milch mit Wasserstoffsuperoxyd, unter spezieller Berücksichtigung des von Budde angegebenen Verfahrens. (*Orig.*) 639  
**v. Bazarewski, S.**, Ueber zwei neue farbstoffbildende Bakterien (*Orig.*) 1  
**Beauverie, J.**, Le bois. 480  
**Beijerinck, M. W.**, Een obligaat anaërobe gisting-sarcine. 473  
 — und **Rant, A.**, Wundreiz, Parasitismus und Gummifluß bei den Amygdaleen. (*Orig.*) 366  
**Bergey, D. H.**, Die bei Eiterungen vorkommenden Bakterien (*Orig.*) 245  
**Bericht** über die Tätigkeit der Hefereinzuchtstation Geisenheim a. Rh. aus Wortmanns Bericht der Königlichen Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim 1904. 504  
**Bernard, N.**, Recherches expérimentales sur les Orchidées. 68  
**Blau, Oskar**, Ueber die Temperaturmaxima der Sporenkeimung und der Sporenbildung, sowie die supramaximalen Tötungszeiten der Sporen der Bakterien, auch derjenigen mit hohen Temperaturmaxima (*Orig.*) 97  
**Boekhout, F. W. J. und Ott de Vries, J. J.**, Ueber die Edamerkäse-*reife* (*Orig.*) 321  
 — —, Ueber die Selbsterhitzung des Heues. (*Orig.*) 568  
**Bokorny, Th.**, Ueber das Aufsammlungsvermögen der Hefe für Farbstoffe und gewisse Schwermetallsalze. 471  
**Boynton, Perkins s. Copeland, Wm. R.**  
**Brandauer, M.**, Versuche über das proteolytische Enzym im bayerischen Darrmalze. 472  
**Brick, C.**, Ueber das Kirschbaumsterben am Rhein. 271  
**Briem**, Wurzelbrandentdeckung und kein Ende. 487  
**Brizi, V.**, Sul brusone. 653  
**Brown, Thomas R. s. Chester, Frederick D.**  
**Brüning, Herm.**, Rohe oder gekochte Milch. 642  
**Buchner, Ed. und Antoni, W.**, Weitere Versuche über die zellfreie Gärung. 748  
**Burri, R. und Düggell, M.**, Bakteriologischer Befund bei einigen Milchproben von abnormaler Beschaffenheit (*Orig.*) 709  
**Busse**, Reisebericht III der pflanzen-pathologischen Expedition des Kolonialwirtschaftlichen Komitees nach Westafrika. 76  
**Cantlin, G.**, Sur la destruction de l'oeuf d'hiver du Phylloxera par le Lysol. 667  
**Cao, G.**, Il metodo sierodagnostico e il riconoscimento dell'amido del frumento, dell'orzo e della segale. 84  
**Caruso, G.**, Seconda serie di esperienze sulla influenza della ramatura, della concimazione e delle varietà di Olivi nella lotta contro il *Cycloconium oleaginum*. 668  
 —, Terza comunicazione su le esperienze per combattere gli Elateridi dei cereali. 667  
**Chester, F. D.**, Grundsätze für die Einteilung von Bakterien (*Orig.*) 240  
 —, **Frederick D. und Brown, Thomas R.**, On the action of formaldehyd in the preservation of milk (*Orig.*) 629  
**Clausen**, Ein gefährlicher Schädling der

- Kohlpflanzen und Steckrüben während dieses Sommers. 659
- Copeland, Wm. R. und Boynton, Perkins**, Diagnostischer Wert der roten Farbe, die sich bei Zusatz von Natronlauge zu Glukoselösungen nach Gärung entwickelt. (*Orig.*) 242
- Corsini, A.**, Ricerche chimiche e crioscopiche sul' aceto che si vende in Firenze. 66
- Conanon, G.**, Traitement d'hiver contre la Pyrale et la Cochyliis en Champagne. 85
- Czapek, Friedrich**, Biochemie der Pflanzen. 647
- Czaplicki**, Die Homogenisierung der Milch als Nährboden für Bakterien. 661
- Degrully, P.**, Les invasions d'ampelophages. 493
- Delacroix, G.**, La rouille blanche du tabac et la nielle ou maladie de la mosaïque. 272
- Dewitz, J.**, Die Bekämpfung der ampelophagen Mikrolepidopteren in Frankreich (*Orig.*) 449
- , Ueber Fangversuche, angestellt mittelst Acetylenlampen an den Schmetterlingen von *Tortrix pilleriana*. 87
- Didlake, Mary**, Description of a germ whose production of red pigment is limited to its cultivation upon a single medium (*Orig.*) 193
- Dittmar**, Schütte und Schüttelebekämpfung. 284
- Dop, P.**, Sur la biologie des Saprolegniées. 268
- Ducomet, V.**, La brunissure des végétaux et sa signification physiologique. 77
- Düggeli, M. s. Burri, R.**
- Düggeli, Max**, Bakteriologische Untersuchungen über das armenische Mazun. (*Orig.*) 577
- Eberlein, L. s. Rothenbach, F.**
- Eckles, C. H. und Rahn, Otto**, Die Reifung des Harzkäses II. (*Orig.*) 786
- Eckstein**, *Aradus cinnamomeus* Panz., die Kiefernrrindenwanze. 658
- , Zur Bekämpfung der kleinen Schädlinge der jungen Nadelholzkulturen. 502
- , K., Ueber die Anwendung von Fangkolben. I. Zur Vertilgung des *Hylobius abietis*. 668
- Effront, J.**, Sur l'autophagie de la levure. 469
- , Sur le procédé de fermentation à la colophane. 642
- Ehrenberg, Paul**, Stickstoffverluste in faulenden Peptonlösungen, ein Beitrag zur Methodik der bakteriellen Bodenuntersuchung. (*Orig.*) 154
- Enderlein, G.**, Läusestudien. III. Zur Morphologie des Läusekopfes. 495
- Eppner, K.**, Ueber einige Fälle von Schälschädigungen durch das Eichhörnchen (*Sciurus vulgaris*). 659
- Ewert**, Auftreten und Bekämpfung von *Gloeosporium Ribis* (Lib.). 84
- Falek, Richard**, Die Sporenverbreitung bei den Basidiomyceten und der biologische Wert der Basidie. 73
- Falke**, Die Braunheubereitung. 752
- Fankhauser, F.**, Der Kiefernscüttepilz an der Arve. 270
- Ferle**, Beizversuche, ausgeführt an Weizen. 666
- Fischer, Ed.**, Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Uredineen. (*Orig.*) 227
- , G., Natural pure yeast propagation in brewing. 643
- , Hugo, Zweiter Beitrag zur Kenntnis der Lebensbedingungen von Stickstoffsammelnden Bakterien. (*Orig.*) 235
- Fletcher, James**, Canada depart. agr. Central ex per. farm. 282
- Fraysse, A.**, Sur la biologie et l'anatomie de l'*Osyris alba*. Sur le parasitisme de l'*Osyris alba*. 79
- Fuchs**, Die Borkenkäfer Kärntens und der angrenzenden Gebiete. 282
- , G., Beschreibung der Larve des *Otiorynchus sensitivus* Scop. syn. *planatus* Herbst. 659
- Fuhrmann, Franz**, Die Kernteilung von *Saccharomyces ellipsoideus* I Hansen bei der Sprossbildung (*Orig.*) 769
- , Fr[anz], Morphologisch - biologische Untersuchungen über ein neues Essigsäure bildendes Bakterium. (*Orig.*) 377
- , Ueber die Erreger des Fadenziehens beim Brote. (*Orig.*) 385. 538
- Gage, S. de M.**, Laboratoriumeinrichtungen. (*Orig.*) 247
- Gautier, L.**, Sur la biologie du *Melampyrum pratense*. 759
- Geschwind, L.**, Le goitre de la Betterave (Wurzelkropf der Zuckerrübe). 486
- Glard, A.**, La ponte des Libellules du genre *Lestes*. 280
- Glard, A.**, L'Ino ampelophaga, ravageur des feuilles de la vigne en Palestine. 493
- Gibson, Miss C. M.**, Notes on infection experiments with various Uredineae. 650
- Gonnermann**, Wurzelbrand. 273
- Gorini, C.**, Su la necessità di ordinare la classificazione dei bacterii del latte. 641
- , Const., Ueber meine Reinkulturen-Anwendungsmethode zur Herstellung des italienischen Grana-(Parmesan-)Käses. (*Orig.*) 791
- Goury, G. et Guignon, J.**, Les insectes parasites des Berbérédées. 657
- Goury, G. et Guignon, J.**, Les insectes parasites des Renonculacées. 657
- Grafe, Wilhelm**, Studien über Atmung und tote Oxydation. 469
- Grixoni, G.**, Nuovo latte fermentato facile a prepararsi nei servizi ospedalieri. „Il Gioddu“. 750
- Guéguen, F.**, Sur l'emploi des bleus pour coton et pour laine dans la technique mycologique. 283
- Guignon, J. s. Goury, G.**

- Guilliermond, A.**, Contribution à l'étude cytologique des cyanophycées. 755  
 —, [A.], Remarques sur la cytologie des Ascomycètes. 649  
 —, Remarques sur la karyokinèse des ascomycètes. 754  
**Guillon, J. M. et Perrier de la Bathie, L.**, Les criquets dans les Charentes. 80  
**Guttenberg, Hermann, Ritter v.**, Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilzgallen. 759  
**Hansen, Emil Chr.**, Oberhefe und Unterhefe. (*Orig.*) 353  
**Harding, H. A.**, Einige Versuche mit Proberöhrchen. (*Orig.*) 250  
 —, und **Prucha, M. J.**, *Pseudomonas campestris* (Pam.) Smith. (*Orig.*) 240  
**Harrison, F. C. and Barlow, B.**, A new chromogenic slime-producing organism. (*Orig.*) 517  
 —, **J. C. und Barlow, B.**, Die Dampfdestillation. (*Orig.*) 250  
**Hasler, Alfred**, Kulturversuche mit *Crepis* und *Centaurea-Puccinien*. (*Orig.*) 257  
**Heim**, Der Reinlichkeitszustand künstlicher und natürlicher Mineralwässer. 266  
**Heinricher**, Ein Hexenbesen auf *Prunus Padus* L. 651  
 —, *Exoascus Cerasi* (Fuckel) Sadebeck als günstiger Repräsentant Hexenbesen bildender Pilze für pflanzenbiologische Gruppen. 652  
**Henneberg, W.**, Bakteriologische Untersuchungen an säuernden und gärenden Hefenmaischen. (Ein Beitrag zur Kenntnis des Verhaltens des *Bacillus Delbrücki* bei verschiedenen Temperaturen.) (*Orig.*) 260  
**Henry, François**, Préparation des bouillies arsenicales pour combattre les altises. 85  
**Hermann**, Zur Kropfbildung bei der Eiche. 276  
**van Hest, J. J.**, Gibt es wirklich große Vakuolen in den Hefezellen oder sind diese eine optische Täuschung? (*Orig.*) 61  
**Hill, H. W.**, Einführende Bemerkungen über die Morphologie der Bakterien (*Orig.*) 243  
 —, Neue Apparate. (*Orig.*) 249  
**Hiltner, L.**, Die weitere Ausgestaltung der Organisation des Pflanzenschutzes in Bayern. 501  
**Hiltner, L.**, Mahnung zur Vorsicht beim Einkauf von La-Plata-Mais und von Reismehl. 271  
**Hippius, Alexander**, Biologisches zur Milchpasteurisierung. 500  
**Hirsch, Julius**, Der Einfluß von Formaldehyd auf Vermehrungsenergie und Gärungsenergie, sowie auf die Generationsdauer verschiedener Hefarten. 664  
**Hollrung**, Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten. Unter Mitwirkung von Fabricius-München, Küster-Halle, Reuter-Helsingfors, Stift-Wien, Tarrach-Halle und Zang-Geisenheim. Bd. VII: Das Jahr 1904. 758  
**Hollrung**, Zur Bekämpfung der Eichenkolbenlaus (*Phylloxera coccinea* Heyd). 667  
**Houard, C.**, Les galles latérales des tiges. 497  
 —, Recherches anatomiques sur les galles de tiges: *Acrocécidies*. 78  
**Jacobi**, Eine Spinnmilbe (*Tetranychus ununguis* n. sp.) als Coniferenschädling. 270  
**Jensen, Hjalmar**, Ueber die Bekämpfung der Mosaikkrankheit der Tabakpflanze. (*Orig.*) 440  
**Jones, Mabel**, Ein eigentümliches Spirillum, das Rosettenbildung zeigt. (*Orig.*) 243  
**Jumelle, H.**, De l'influence des endophytes sur la tubérisation des *Solanum*. 490  
**Kaserer, Hermann**, Ueber die Oxydation des Wasserstoffes und des Methans durch Mikroorganismen. (*Orig.*) 573  
**Kayser, E.**, Les levures, caractères morphologiques et physiologiques, applications de levures sélectionnées, 2e édition. 747  
**Klebahn, H.**, Eine neue Pilzkrankheit der Syringen. (*Orig.*) 335  
 —, Zusammenhänge von Ascomyceten mit Fungis imperfectis. (*Orig.*) 336  
**Klein**, Versuche mit dem Milchprüfer Patent Fliegel. 498  
**Kleuker**, Ueber Wurzelbrand an Zuckerrüben. 487  
**Knoche**, Zur Generationsfrage der Borkenkäfer. 658  
**Koch**, Das Eichhörnchen (*Sciurus vulgaris* L.) als Waldschädling. 660  
**Köck**, Ein für Oesterreich neuer Rosenschädling. 489  
 —, **G.**, *Septoria Lycopersici* auf Paradiespflanzen und *Phyllosticta Cyclaminis* auf *Cyclamen persicum*. 271  
**Kohn, Eduard**, Zur Biologie der Wasserbakterien. (*Orig.*) 690. 777  
**Koning**, Biologische und biochemische Studien über Milch. Zweiter Teil: Die Zerlegungsphasen der Milch. [Uebersetzt von Johs. Kaufmann.] 68  
**Koning**, Biologische und biochemische Studien über Milch. Dritter Teil: Der Säuregrad der Milch. [Uebersetzt von Johs. Kaufmann.] 475  
**Korff**, Ueber das Auftreten schädlicher Getreidemilben in Bayern im Sommer 1905. 760  
 —, **G.**, Ueber Wurzelbildungen bei Obstbäumen. 652  
**Kossowitsch**, Ueber das Verhalten der Bakterien zu Sinigrin. Das Sinigrin als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle. Die bakterizide Wirkung des Senföls. 499  
**Krasser, Fridolin**, Ueber die Bekämpfung der Obstmade bezw. der *Carpocapsa* 51\*

- pomonana mit Arsenpräparaten, insbesendere Schweinfurter Grün. 668
- Krasser, Fridolin**, Ueber eine eigentümliche Erkrankung der Weinstöcke. 492
- Kricheldorf**, Ueber Rübenmüdigkeit. 486
- Krieg, Walther**, Versuche mit Ranunculaceen bewohnenden Aecidien. (*Orig.*) 258
- Krtiger**, Untersuchungen über den Gürtelschorf der Zuckerrüben. 654
- Kukla, Anton**, Kurze oder lange Tennenföhrung im Lichte der stickstoffhaltigen Substanzen des Malzes und des Bieres. 472
- Kullsch**, Ueber das diesjährige Auftreten der Peronospora am Rebstocke, besonders auf den Trauben. 655
- Kusserow, R.**, Die neuere Vervollkommnung des Milchsäureverfahrens. 267
- Lafar, Franz**, Handbuch der technischen Mykologie. 2. Aufl. 737
- Lange, H.**, Anregung der Gärkraft der Hefe durch Reizmittel. 64
- , und **Lühder, E.**, Stickstoffbilanz in der Preßhefenfabrikation. 798
- Laubert, R.**, Die Kropfkrankheit (Plasmodiophora) des Kohls und ihre Bekämpfung. 652
- , Eine neue Rosenkrankheit, verursacht durch den Pilz Coniothyrium Wernsdorffiae. 275
- le Baron s. Sénéquier.**
- Lemée, E.**, Les ennemis des plantes. Catalogue raisonné des insectes cécidogènes et non cécidogènes, maladies cryptogamiques, phanérogames parasites sur les plantes vivantes, fasciations, cas de tératologie. 649
- , Les ennemis des plantes. 3e Sér. No. 1: Arbres fruitiers. 649
- , Notes sur quelques zoocécidies et maladies cryptogamiques récoltées lors de l'excursion de la Soc. Linnéenne de Normandie à Saint-Léonard-des-Bois. 279
- , Sur des formes nouvelles de zoocécidies. 279
- Lindau, G. s. Sorauer, P.**
- Lindner**, Bemerkungen zu der vorläufigen Mitteilung von J. J. van Hest: Gibt es wirklich große Vakuolen in den Hefezellen u. s. w.? (*Orig.*) 61
- , P., Die Assimilierbarkeit der Selbstverdauungsprodukte der Bierhefe durch verschiedene Heferassen und Pilze. Mitteilung I. Nach Versuchen von Dr. Rülke und Dr. H. Hoffmann. 797
- Löhns, F.**, Untersuchungen über den Verlauf der Stickstoffumsetzungen in der Ackererde. (*Orig.*) 361. 430
- Lounsbury, C. P.**, Locust Poisons. 282
- v. Lubimoff, L.** Die Verbreitung des Hausschwammes in Rußland. 269
- Lühder, E. s. Lange, H.**
- Lukin, Mstislav**, Experimentelle Untersuchungen über Sterilisierung der Milch mit Wasserstoffsperoxyd, unter spezieller Berücksichtigung des von Budde angegebenen Verfahrens. (*Orig.*) 20. 165
- Lutz, L.**, Les microorganismes fixateurs d'azote. [Morphologie et biologie.] 477
- Maassen**, Ueber Gallertbildungen in den Säften der Zuckerfabriken. 66
- Macchiatl, L.**, Note di biologia sul Bacterium chlorometamorphicum. 268
- Malre, R.**, La formation des asques chez les Pezizes et l'évolution nucléaire des Ascomycètes. 72
- , Recherches cytologiques sur quelques ascomycètes. 753
- , Sur les mitoses hétérotypiques et la signification des protochromosomes chez les Basidiomycètes. 467
- Majunke**, Ueber die Verarbeitung von Obst auf Brantwein. 477
- Malenkovič, Basillus**, Ist Holz durch Bakterien vergärbar? 651
- Marchal, P.**, Diagnose d'une Cécidomyie nouvelle vivant sur le Caroubier
- , La Cécidomyie des Caroubes, Schizomyia Gennadii Narchal. 281
- , Observation biologique sur un parasite de la Galéruque de l'Orme, le Tetrastichus xanthomelaenae (Rond.)
- , Identification du parasite des oeufs de la Galéruque de l'Orme, Tetrastichus xanthomelaenae (Rond.) 490
- Marès, R.**, Une invasion de chenilles de Sphinx dans le vignoble du département d'Alger. 657
- Marino, L. e Sericano, G.**, Studio chimico e fisico su la natura chimica degli enzimi e la loro attività. 641
- Marshall, Charles E.**, Extended studies of the associative action of bacteria in the souring of milk. (*Orig.*) 400
- , Gemeinsame Einwirkung von Bakterien auf die Säuerung der Milch. (*Orig.*) 245
- Masoni, G.**, Nitrificazione delle materie azotate portate nel terreno con il pozzo nero. 643
- Maurizio, A.**, Zur Lebensweise der Milben der Familie der Tyroglyphinae in Futter- und Nahrungsmitteln. (*Orig.*) 606. 723
- Mayet, Valéry**, Les cicadelles nuisibles à la vigne. 83
- Mazé, P. et Perrier, A.**, Production d'acide citrique par Citromyces. 65
- Menel, Emanuel**, Cytologisches über die Bakterien der Prager Wasserleitung. (*Orig.*) 544
- Meyer, Arthur**, Apparat für die Kultur von anaëroben Bakterien und für die Bestimmung der Sauerstoffminima für Keimung, Wachstum und Sporenbildung der Bakterien species. (*Orig.*) 337
- Mollisch, Hans**, Die Lichtentwicklung in den Pflanzen. 648
- Molliard, M.**, A propos de la galle de l'Eriophyes Echii. 281
- Molliard, M.**, Structure de quelques Tylenchocécidies foliaires. 281



- Moritz**, Was kann und soll der deutsche Winzer zur Bekämpfung der Reblauskrankheit tun? 667
- Müller-Thurgau, H.**, Die Milbenkrankheit der Reben (Verzweigung, Court-noué, Kräuselkrankheit etc.). (*Orig.*) 623
- Muth, Franz**, Ueber den Birnenhexenbesen. 277
- Nadson, G. und Raitschenko, A.**, Zur Morphologie von *Enteromyxa paludosa* Cienk. 277
- Nathan, Leopold und Schmid, Arthur**, Ueber den Einfluß der Metalle auf gärende Flüssigkeiten. [III. Mitteilung.] (*Orig.*) 349
- Neumann-Wender**, Die reduzierenden Enzyme und ihre Beziehungen zur alkoholischen Gärung. 63
- Noack**, *Helminthosporium gramineum* Rabenh. und *Pleospora trichostoma* Wint. 484
- Noack, F.**, Ein neuer Rübenschädling. 274
- Noël, B.**, Nouvelles espèces d'endophytes d'Orchidées. 756
- Ogawa, M.**, Bakteriologische Untersuchung getrübbten Bieres. 473
- Ollivier, E.**, Faune de l'Allier: Ordre des Hémiptères, Homoptères, Aphides. 490
- Omellanski, W.**, Ueber Methanbildung in der Natur bei biologischen Prozessen. (*Orig.*) 673
- Osterwalder, A.**, Die Phytophthorafäule beim Kernobst. (*Orig.*) 435
- Ott de Vries, J. J. s. Boekhout, F. W.**
- v. Oven**, Ueber eine Fusariumerkrankung der Tomaten. 491
- Pammel, L. H.**, Bakteriologie der Wasserversorgung einiger Eisenbahnen. (*Orig.*) 246
- Passerini, N.**, Esperienze per combattere la peronospora della vite. 667
- , Sopra la sterilizzazione dei mosti mediante i solfiti in rapporto con l'uso dei fermenti selezionati.
- , Su la fermentazione con mosto sterilizzato mediante solfiti e con fermenti adattati al mezzo solforoso. 665
- Perrier de la Bathie, L. s. Huillon, J. M.**
- Perrier de la Bathie**, Les campagnoles. 496
- Perrier, A. s. Mazé, P.**
- Peter, A. und Schneebeli, M.**, Ein bemerkenswerter Fall von nachträglicher Käseblähung. (*Orig.*) 600
- Pfrelmbtner, J.**, Erfahrungen über das Löfflersche Infektionsverfahren zur Bekämpfung der Mäuseplage in einer neuen Art der Anwendung. 502
- Philbrick, B. G.**, Veränderungen im Bakteriengehalt des Wassers beim Durchtritt durch ein Verteilungsreservoir. (*Orig.*) 246
- Pierre**, Note cécidologique. 279
- , Observations cécidologiques. 279
- , Sur l'éclosion des oeufs de *Lestes viridis* van der L. 279. 657
- Prescott, S. C.**, Einige große, aber nicht kostspielige Brutschränke für Lehr- und Arbeitslaboratorien. (*Orig.*) 250
- Pringsheim, Hans H.**, Ueber den Ursprung des Fuselöls und eine Alkohole bildende Bakterienform. (*Orig.*) 300
- Prucha, M. J. s. Harding, H. A.**
- Raebiger, H.**, Ueber Versuche zur Vertilgung der Ratten durch Bakterien. 86
- Rahn, Otto s. Eckles, C. H.**
- , Die Zersetzung der Fette. (*Orig.*) 53. 422
- Raitschenko, A. s. Nadson, G.**
- Rant, A. s. Beijerinck, M. W.**
- Ravaz, L. et Vidal, D.**, Cause du dépérissement des vignes plantées dans les sables en Algérie. 493
- Reh, L. s. Sorauer, P.**
- Reiche, C.**, Bau und Leben der chilenischen Lorantheen *Phrygilanthus aphyllus*. 494
- Reinelt, Josef**, Beitrag zur Kenntnis einiger Leuchtbakterien. (*Orig.*) 289
- Reiss, E.**, Die Katalase der Milch. 267
- Rettger, L. F.**, Ueber den Antagonismus von Bakterien und ihren Produkten gegenüber anderen Bakterien. (*Orig.*) 244
- Riekards, B. R.**, Eine einfache Methode, anaerobe Bakterien zu züchten. (*Orig.*) 249
- Rippert**, Neuere über Pflanzenkrankheiten. I. II. 479 480
- Robin, A.**, I. Demonstration eines wirksamen Wärmeregulators. (*Orig.*) 247
- de Rocquigny-Adanson, G.**, Note cécidologique. 279
- Rodella, A.**, Einiges über die Bedeutung der direkten mikroskopischen Präparate für das Studium des Käseereifungsprozesses (*Orig.*) 143
- Röttgen, Th.**, Von den flüchtigen Säuren im Weine und einer einfachen Methode zur Bestimmung derselben. 474
- Rogers, Anne F. s. Winslow, C. E. A.**
- , L. A., An electrically controlled low temperature incubator. (*Orig.*) 236
- , L. A., Eine einfache Methode, um die Fähigkeit von Bakterien, verschiedenen Zucker zu vergären, zu bestimmen. (*Orig.*) 248
- Rommel**, Gibt es Vakuolen? (*Orig.*) 61
- Ross, H.**, Ueber Schädigungen des Haselstrauches und deren Bekämpfung. 656
- Rossi, Giacomo und Sante de Grazia**, Histologische und chemische Untersuchungen über die Zersetzung der Pflanzen. (*Orig.*) 215
- Rothenbach, F. und Eberlein, L.**, Zu der Enzymgärung der Essigpilze. 475
- Ruhland, W. s. Aderhold, Rud.**
- Salto, K.**, Ueber das Vorkommen von *Saccharomyces anomalus* beim Sakebrennen. 266
- , Untersuchungen über die atmosphärischen Pilzkeime. 266

- Salmon, E. S.**, On the present aspect of the epidemic of the American Grosse-berry-Mildew in Europa. 655
- Sante de Grazia s. Rossi, Giacomo.**
- Schander, R.**, Das Pasteurisieren von Most und Wein. 501
- , Ueber fehlerhafte Gärung bei Beerenweinen. 474
- Schaps, L.**, Zur Frage der Konservierung der Milch durch Formaldehyd, speziell zum Zweck der Säuglingsernährung. 283
- Schellenberg, H. C.**, Zur Schüttekrankheit der Arve. 270
- Schenk, M.**, Ueber Selbstverdauung einiger Hefearten (obergärige Hefe, Brennerhefe, Kahlhefe). 266
- Schiff-Giorgini, Ruggero**, Untersuchungen über die Tuberkelkrankheit des Oelbaumes. (*Orig.*) 200
- Schindler**, Einiges über kranke Jungweine und deren Behandlung. 474
- Schmid, Arthur s. Nathan, Leopold.**
- Schmidt**, Die Milbenspinne an Stachelbeeren. 654
- Schneebeli, M. s. Peter, A.**
- Schneider, Otto**, Weitere Versuche mit schweizerischen Weidenmelampsoren. (*Orig.*) 232
- Schorler, B.**, Die Rostbildung in den Wasserleitungsröhren. (*Orig.*) 564
- Schouteden, H.**, Description d'Aphides cécidiogènes nouveaux. 78
- , Les aphidocécidies paléarctiques. 280
- Schouten, S. L.**, Reinkulturen aus einer unter dem Mikroskop isolierten Zelle. 760
- Seller, Franz**, Zusammensetzung der durch Bakterien gebildeten Schleime. 646
- Sénéquier et le Baron**, Les stérilisateurs Otto, applications pratiques de l'ozone au traitement de l'eau et de l'air. 662
- Senft, Emanuel**, Mikroskopische Untersuchung des Wassers mit Bezug auf die in Abwässern und Schmutzwässern vorkommenden Mikroorganismen und Verunreinigungen. 661
- Sericano, G. s. Marino, L.**
- Sigmund, Wilhelm**, Beiträge zur Kenntnis des Wurzelbrandes der Rübe. 273
- Smith, E[rlwin] G.**, Mitteilungen über den Abwasserbakterien ähnliche Formen, die in den natürlichen Wässern von Ost-Massachusetts vorkommen. (*Orig.*) 250
- , Some observations on the biology of the olive-tubercle organism. (*Orig.*) 198
- , Vorführungen von Kulturen auf Stärkengelée und auf Silikatgelée. (*Orig.*) 242
- , **R. E.**, The water-relation of Puccinia Asparagi. A contribution to the biology of a parasitic fungus. 270
- , **R. Greig**, Aus dem bakteriologischen Institut der Linné-Gesellschaft von Neu-Süd-Wales. (*Orig.*) 380
- , —, Bakteriologisches Laboratorium der Linnean Society of New South Wales. (*Orig.*) 793
- Söhngen, N. L.**, Ueber Bakterien, welche Methan als Kohlenstoffnahrung und Energiequelle gebrauchen. (*Orig.*) 513
- Sorauer, P.**, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Dritte vollständig neubearbeitete Auflage in Gemeinschaft mit G. Lindau und L. Reh herausgegeben. 756
- Stift, A.**, Bemerkungen über den Gürtelschorf der Rüben. 654
- Strunk**, Bericht über eine Reise nach St. Thomé. 657
- Sula, Jaroslav**, Ueber die Einführung und gegenwärtige Verbreitung der Reinhefe in den Sudetenländern. 64
- , Welchen Veränderungen unterliegt pasteurisiertes Bier? 84
- Sullivan, M. H.**, Der Stoffwechsel farbstoffbildender Bakterien. (*Orig.*) 243
- Swellengrebel, N. H.**, Bemerkung zu der Arbeit des Herrn Dr. E. Pantanelli über Pression und Tension der Hefen. (*Orig.*) 419
- v. Szontagh, Felix**, Zur Biochemie der Milch. 750
- Telchert**, Die mechanischen, chemischen und bakteriellen Kampfmittel gegen Ratten und Mäuse. I. Die Bekämpfung der Ratten. II. Die Bekämpfung der Mäuse. 503
- Templin, H.**, Montanin. 283
- Thaer**, Dielandwirtschaftlichen Unkräuter. Farbige Abbildung, Beschreibung und Vertilgung derselben. Dritte durchgesehene Aufl. 758
- Thaxter, Roland**, Contributions from the cryptogamic laboratory of Harvard University. LVI. Notes on the Myxobacteriaceae. 644
- , Preliminary diagnoses of new species of Laboulbeniaceae. VI. Contributions from the cryptogamic laboratory of Harvard University. LXII. 645
- Thiele**, Ueber die Schwierigkeit, mittels der Kjeldahlschen Methode eine geringe Stickstoffvermehrung im Ackerboden festzustellen. 498
- Thiele, R.**, Bemerkung zu: Ehrenberg, Paul. Entgegnung auf das Referat in No. 18. Bd. XIII. 32
- Thumm**, Augenblicklicher Stand der Abwasserreinigung nach dem biologischen Verfahren. 762
- Tiraboschi, C.**, I filtri di porcellana d'amianto e la filtrazione delle acque potabili. 761
- Troili-Petersson, Gerda**, Bemerkungen zu der Arbeit von A. Rodella: Einiges über die Bedeutung der direkten mikroskopischen Präparate für das Studium des Käseereifungsprozesses. (*Orig.*) 430
- Tscherniajew, E.**, Ueber den Einfluß der Temperatur auf die normale und die intramolekulare Atmung der verletzten Pflanzen. 468

- v. Tubeuf, C.**, Die Hexenbesenkrankheit der Syringen in Bayern. 270  
 —, Die Milbenspinne an den Fichten. 276  
 —, Hexenbesen an *Prunus Padus*. 652  
**Tullo, T. W.**, Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Zuckerlösungen auf die Tötungstemperatur bei verschiedenen Hefearten. [Aus dem Englischen übertragen von P. Lindner.] (*Orig.*) 62  
**Tuzson, J.**, Anatomische und mykologische Untersuchungen über die Zersetzung und Konservierung des Rotbuchenholzes. 482  
**Uzel, H.**, Mitteilung über Krankheiten und Feinde der Zuckerrübe in Böhmen im Jahre 1904. 272  
 —, Ueber den auf der Zuckerrübe parasitisch lebenden Pilz *Cercospora beticola* Sacc. 487  
**Vageler, P.**, Die Entstehung und Vegetationsverhältnisse der Moore. 643  
**Vermell, P.**, Situation viticole et vinicole de la province d'Oran. 655  
**Vetter, J.**, Zum Auftreten der *Peronospora viticola* im heurigen Jahre. 655  
**Vibrans, J.**, Nutzbarmachung des Luftstickstoffs. 478  
**Vidal, D. s. Ravaz, L.**  
**Vogel, J.**, Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes durch Mikroorganismen. (*Orig.*) 33. 174. 215  
**Volpino, Guido**, Sopra un interessante microorganismo radunatore d'azoto isolato dal terreno. 70  
**Vuillemin, P.**, L'*Aspergillus fumigatus* est-il connu à l'état ascospore? 269  
**Vuillemin, P.**, *Hyphoides et bactéroïdes*. 267. 737  
**Wehmer, C.**, Ueber das Verhalten der Mucor-Arten gegen verdünnten Alkohol. 471  
**Wehmer, C.**, Versuche über Mucorineengärung II. (*Orig.*) 8  
**Wehmer, C.**, Zur Oxalsäurebildung durch *Aspergillus niger*. Kritische Bemerkungen zu einer Arbeit von G. Charpentier. (*Orig.*) 688  
**Wels, Fr.**, Bakterielivet i Jordbunden, og dets Betydning for Jordbruget. 69  
**Wiehmann, Heinrich**, Japanisches Bier. 472  
**Wilmon Newell**, The cotton caterpillar. 274  
**Winkler, E.**, Einige tierische Schädlinge an Kakaofrüchten. 492  
**Winslow, C. E. A. und Rogers, Anne F.**, Eine Revision der Coccaceen. (*Orig.*) 241  
**Wortmann, J.**, Biologische Untersuchungen über die Abstiche der Weine. 748  
**Zangenmeister, W.**, Der Einfluß der Bakterien auf die molekulare Konzentration des Nährbodens. 660  
**Zimmermann, Hugo**, Eine neue Tarsoneumusart auf Gartenerdbeeren. 488

## II. Namen- und Sachverzeichnis.

- Abwasser**, Vorkommen von Mikroorganismen. 661  
**Abwasserreinigung**, biologisches Verfahren. 762  
**Acarus farinae** s. *Tyroglyphus farinae*. 609  
 —, Auftreten in Bayern 1905. 760  
 — *plumicae*, Auftreten in Bayern 1905. 760  
 — *spinipes* s. *Glycyphagus spinipes*. 609  
**Acetobacter plicatum** n. sp. Fuhrmann, Biologie u. Morphologie. 377  
**Acetylenlampen** zum Fangen von *Tortrix pilleriana*. 87  
**Ackerbau**, Bedeutung der Bakteriologie. 70  
**Ackererde**, Stickstoffumsetzung. 361. 430  
**Acompsomyces brumeolus** n. sp. Thaxter auf *Corticaria*. 646  
**Acroecidien**, anatomische Untersuchung. 78  
**Acrostalagmus cinnabarinus** Corda auf *Tyroglyphinen*. 619  
**Actinomyces odorifer**, Ursache des Erdgeruches. 745  
**Actinomyceten**, Morphologie. 745  
**Adelges abietes**, Deformationenbildung auf der Wirtspflanze. 490  
 — *strobilobius*, Deformationenbildung auf der Wirtspflanze. 490  
**Aecidien**, *Ranunculaceen* bewohnende. 258  
**Aecidium** auf *Ranunculus auricomus*, Kulturversuche. 258  
 — auf *Ranunculus platanifolius*, Kulturversuche. 259  
 — *Calthae*, Kulturversuche. 259  
 — *elatinum*, Ursache des Kropfes der Tannen. 276  
 — *Ficariae*, Kulturversuche. 258  
**Agaricus melleus**, Lichtentwicklung. 648  
**Albugo candida** auf *Capsella Bursa pastoris*, Gallenbildung. 759  
**Aletia argillacea** Hübn., Bekämpfung. 274  
**Alkohol**, Bildung durch Bakterien. 300  
 —, Wirkung auf Mucor-Arten. 471  
**Amygdaleen**, Gummifluß, Ursache. 366  
 —, Parasitismus. 366  
 —, Wundreiz. 366  
**Anaerobe Bakterien**, Züchtungsmethode. 249  
**Anaerobe Platten**, Herstellungsmethode. 247

- Anaëroben, Apparat zur Kultur. 337  
 Anaërobiöse, Notwendigkeit des Sauerstoffes. 644  
 Anagallis arvensis, Gallenbildung. 280  
 Andricus Sieboldi, Gallenbildung. 498  
 Angelica sylvestris, Gallenbildung. 280  
 Anobium paniceum, Schädling des La-Plata-Maises. 271  
 Antagonismus von Bakterien und ihrer Produkte. 244  
 Antikörper, Produktion beim Oelbaum gegen den Bac. oleae. 208  
 Aphididae auf Abies nobilis, Gallenbildung. 78  
 Aphidocecidien, paläarktische. 280  
 Aphis craccae auf Vicia cracca, Gallenbildung. 280  
 — grossulariae auf Ribes, Gallenbildung. 78  
 — ilicis auf Ilex aquifolium, Gallenbildung. 280  
 — leontopodii auf Leontopodium alpinum, Gallenbildung. 280  
 — origani auf Origanum vulgare, Gallenbildung. 280  
 — persicae, Deformationenbildung auf der Wirtspflanze. 490  
 — pomi auf Cotoneaster vulgaris, Gallenbildung. 280  
 — ribis, Deformationenbildung auf der Wirtspflanze. 490  
 — rumicis auf Solanum nigrum, Gallenbildung. 280  
 — tragopogonis auf Tragopogon porifolius, Gallenbildung. 280  
 — viburni auf Philadelphus coronarius, Gallenbildung. 280  
 — — auf Valeriana officinalis, Gallenbildung. 280  
 Aradus cinnamomeus Panz., Kiefern-schädling. 658  
 Arsenikbrühe zur Bekämpfung von Haltica ampelophaga. 85  
 Arvicola agrestis, Vorkommen und Bekämpfung. 496  
 Ascomyceten, Cytologie. 649  
 —, Karyokinese. 753. 754  
 —, Kernentwicklung. 72  
 —, Zusammenhang mit Fungis imperfectis. 336  
 Aspergillus, Vorkommen in verdorbenen Broten. 386  
 — flavus Link auf Tyroglyphinen. 619  
 — fumigatus Fresen auf Tyroglyphinen. 619  
 — —, Vorkommen von Peritheciën. 269  
 — glaucus L. auf Tyroglyphinen. 619  
 — —, Vorkommen in der Luft. 266  
 — niger van Tiegh. s. Aspergillus nigricans. 619  
 — —, Kohlenstoffbedarf. 779  
 — —, Oxalsäurebildung. 688  
 — —, Phosphorbedarf. 784  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — nigricans auf Tyroglyphinen. 619  
 Athalia spinarum, Kohl- und Rübenschädling. 659  
 Atmung bei der Hefe. 469  
 —, verletzter Pflanzen, Einfluß der Temperatur. 468  
 Autophagie s. Selbstverdauung. 469  
 Azotobacter chroococcum Beijerinck, Lebensbedingungen. 235  
 Bacillus acaciae, Schleimbildung. 647  
 — acetigenus, Kohlenstoffbedarf. 780  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — — (Bact. acetigenum), Vorkommen im Wasser. 706  
 — acetosus, Kohlenstoffbedarf. 779  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Vorkommen im Wasser. 705  
 — acidi lactici, Säuerung der Milch. 245. 400  
 — — —, Vorkommen im Mazun. 580  
 — — — Grotenfelt, Wirkung in der Milch. 68  
 — — — Hueppe, Wirkung in der Milch. 68  
 — — paralactici Kozai, Wirkung in der Milch. 68  
 — aërogenes Schleimbildung. 647  
 — alcaligenes Petruschky, Wirkung von Formalin. 637  
 — alvei, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — amylocyme, Bildung von Amylalkohol. 307  
 — anglomerans, Saprophyt höherer Pflanzen. 372  
 — anthracis, Antagonismus gegen B. prodigiosus. 244  
 — anthracis, Sauerstoffbedürfnis. 644  
 — asterosporus, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 112  
 — brunneus rigensis, Farbstoffbildung. 4  
 — — — n. sp. Bazarewski, Morphologie und Physiologie. 1  
 — bruxellensis, Schleimbildung. 647  
 —, Buttersäure, H. Pringsheim auf amerikanischen Kartoffeln, Kultur. 314  
 — — —, Bildung von Isopropyl- und Butylalkohol. 317  
 — — —, Zusammenwirken mit Saccharomyces cerevisiae. 319  
 — calidus n. sp. A. M. et Blau, Sporen. 134  
 — —, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 110  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — — n. sp. A. M. et Blau, Wachstum. 135  
 — candidus liquefaciens, Kohlenstoffbedarf. 780

- Bacillus candidus liquefaciens*, Stickstoffbedarf. 783  
 — — —, Verhalten im Wasser. 700  
 — *Carotarum*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 112  
 — *casei* = von Freudenreich, Vorkommen bei der Reifung des Harzkäses. 790  
 — *caulivorus*, Ursache der Stengelerkrankung der Kartoffel. 479  
 — *cloaceae*, Bildung roter Farbe bei der Gärung. 242  
 — *cohaerens*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 112  
 — *coli*, Vorkommen bei Eiterungen. 246  
 — —, Wirkung auf die chemische Zusammensetzung der Zellwände. 213  
 — — *communis*, Vorkommen in Wasserleitungen. 246  
 — *Comesii* Rossi, Wirkung auf die chemische Zusammensetzung der Zellwände. 213  
 — *cuticularis*, Kohlenstoffbedarf. 778  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Verhalten im Wasser. 697  
 — *cylindricus* n. sp. A. M. et Blau, Sporen. 119  
 — —, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 110  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — — n. sp. A. M. et Blau, Wachstum. 120  
 — *Delbrücki*, Verhalten bei verschiedenen Temperaturen. 260  
 — *digitatus*, Kohlenstoffbedarf. 780  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — — (*Bac. No. VII* Pansini), Vorkommen im Wasser. 706  
 — *Ellenbachensis*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum. 109  
 — —, Tötungszeit. 112  
 — *enteritidis sporogenes*, Methanbildung bei Eiweißzersetzung. 682  
 — *faecalis alcaligenes* Petruschky, Wirkung in der Milch. 68  
 — *flavens*, Kohlenstoffbedarf. 780  
 — —, Phosphorbedarf. 784  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — *flavescens*, Verhalten im Wasser. 700  
 — *fluorescens*, Rolle bei der Proteinfäulnis. 742  
 — —, Wirkung in der Milch. 68  
 — — *immobilis*, Kohlenstoffbedarf. 778  
 — — —, Phosphorbedarf. 784  
 — — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — — —, Verhalten im Wasser. 696  
 — *fusiformis*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — *Bacillus fusiformis*, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 112  
 — Gummi-Löffler s. *Bacillus liodermos* Flügge.  
 — *graveolens*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — *herbicola* s. *Bac. anglomerans*. 372  
 — Heu-, Vorkommen in der Maische. 260  
 — —, Vorkommen im Mazun. 579  
 — *hydrophilus fuscus*, Kohlenstoffbedarf. 778  
 — — —, Phosphorbedarf. 784  
 — — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — — —, Verhalten im Wasser. 696  
 — *janthinus*, Stoffwechselprodukte. 244  
 — *lacticola*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Tötungszeit. 112  
 — *lactis*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 112  
 — — *aërogenes*, Zersetzung von Milchzucker. 681  
 — — *albus* Flügge, Vorkommen bei der Reifung des Harzkäses. 790  
 — *liodermos*, Biologie und Morphologie. 541  
 — —, Vorkommen in verdorbenem Brote. 386  
 — *liquefaciens*, Rolle bei der Proteinfäulnis. 742  
 — *macrozamia*, Bildung von *Macrozamia-gummi*. 796  
 — *maculicola*, Ursache des weißen Tabakrostes. 272  
 — *margaritaceus*, Kohlenstoffbedarf. 780  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Vorkommen im Wasser. 706  
 — *Megatherium*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — — *De Bary*, Vorkommen im Mazun. 583  
 — *mesentericus* (Flügge) Mig. s. *Bacillus mesentericus fuscus* Flügge.  
 — —, Kohlenstoffbedarf. 779  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Wirkung in der Milch. 68  
 — — *fuscus* Flügge, Biologie und Morphologie. 540  
 — — —, Vorkommen in verdorbenem Brote. 385  
 — — *panis viscosi*, Biologie und Morphologie. 540  
 — — —, Ursache des Fadenziehens des Brotes. 387  
 — — *vulgaris* s. auch *Bacillus mesentericus vulgatus*. 540

- Bacillus mesentericus vulgaris*, Schleimbildung. 647  
 — — —, Vorkommen in verdorbenem Brote. 386  
 — — *vulgatus* (*vulgaris*) Flügge, Biologie und Morphologie. 540  
 — — — Flügge, Ursache des Fadenziehens des Brotes. 385  
 — — — —, Wirkung auf die chemische Zusammensetzung der Zellwände. 213  
 — *methanicus* n. sp. Söhngen, Methan als Nahrungs- und Energiequelle desselben. 515  
 — *mycoides*, Reduktion von Sulfaten. 746  
 — —, Schädling der Rübenkeimpflänzchen. 273  
 — —, Stickstoffumsetzung in Knochenmehl. 433  
 — —, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum. 109  
 — —, Tötungszeit. 112  
 — *oedematis maligni*, Methanbildung bei Eiweißzersetzung. 682  
 — — —, Sauerstoffbedürfnis. 644  
 — *oleae*, Biologie. 205  
 — —, kulturelle Eigenschaften. 203  
 — —, Morphologie. 204  
 — —, Stoffwechselprodukte. 206  
 — —, Wirkung der Temperatur. 205  
 — *omnivorus*, Ursache der Stengelerkrankung der Kartoffel. 479  
 — *orthobutyricus*, Bildung von Isobutylalkohol. 308. 312  
 —, Produktion eines roten Pigmentes. 193  
 — *panificans*, Ursache des Fadenziehens des Brotes. 385  
 — *panis* (Vogel) Mig. s. *Bacillus mesentericus panis viscosi* II Vogel.  
 — *Pansini* s. *Bacillus digitatus*. 706  
 — *parvus*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — *Pasteuri*, Kohlenstoffbedarf. 780  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Vorkommen im Wasser. 706  
 — *Petasites*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — *Petersii*, Kohlenstoffbedarf. 779  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Vorkommen im Wasser. 705  
 — *phytophthorus*, Ursache der Schwarzbeinigkeit der Kartoffel. 479  
 — *prodigiosus*, Antagonismus gegen Milzbrandbacillen. 244  
 — —, Rolle bei der Proteinfäulnis. 742  
 — —, Stoffwechselprodukte. 244  
 — —, Wirkung der Milch. 500  
 — *pseudarabinus* n. sp., Schleimbildung. 795  
*Bacillus pumilus*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — *pyocyaneus*, Rolle bei der Proteinfäulnis. 742  
 — —, Stoffwechselprodukte. 244  
 —, Rauschbrand-, Methanbildung bei Eiweißzersetzung. 682  
 — *robur*, Temperaturmaximum für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum. 109  
 — —, Tötungszeit. 112  
 — *robustus* n. sp. A. M. et Blau, Sporen. 126  
 — —, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 110  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — — n. sp. A. M. et Blau, Wachstum. 128  
 — *rosaceus metalloides*, Stoffwechselprodukte. 244  
 — *ruber*, Kohlenstoffbedarf. 778  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Verhalten im Wasser. 697  
 — — *aquaticus*, Stickstoffbedarf. 783  
 — — *aquatilis*, Kohlenstoffbedarf. 780  
 — — —, Verhalten im Wasser. 700  
 — —, *balticus*, Stoffwechselprodukte. 244  
 — *ruminatus*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — *saccharobutyricus*, Zersetzung von Milchzucker. 681  
 — *sardous* n. sp. Grixoni, Vorkommen in „Gioddu“, Biologie. 752  
 — *silvaticus*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — *similcoli* s. *Bacillus coli*. 213  
 — *simplex*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 112  
 — *solanacearum*, Ursache der Stengelerkrankung der Kartoffel. 479  
 — *solanicola*, Ursache der Stengelerkrankung der Kartoffel. 479  
 — *sphaericus*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — *spongiosus* n. sp. Aderh. et Ruhl., Ursache des Kirschensterbens. 376  
 — *subtilis*, Kohlenstoffbedarf. 779  
 — —, Stickstoffbedarf. 783

- Bacillus subtilis*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 110  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — —, Wirkung in der Milch. 68  
 — —, Wirkung von Wasserstoffsperoxyd. 29. 173  
 — —  $\alpha$ , Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —  $\alpha$ , Temperaturoptimum. 110  
 — —  $\beta$ , Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 112  
 — — *tetani*, Sauerstoffbedürfnis. 644  
 — — *tostus* n. sp. A. M. et Blau, Sporen. 130  
 — —, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 110  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — — n. sp. A. M. et Blau, Wachstum. 131  
 — — *tumescens*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 — —, Temperaturoptimum für Wachstum und Sporenbildung. 109  
 — —, Tötungszeit. 113  
 — — *typhi murium*, neue Art der Anwendung. 502  
 — — — zur Bekämpfung der Mäuseplage. 503  
 — — *violaceus*, Kohlenstoffbedarf. 778. 780  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Stoffwechselprodukte. 244  
 — —, Verhalten im Wasser. 697  
 — — *visco-fucatus* s. *Bacterium visco-fucatum*. 517  
 — — *viscosus* Adametz, Schleimbildung. 647  
*Bacterium Acaciae*, Ernährung. 380  
 — —, Gummibildung. 380  
 — — *acetigenum* s. *Bac. acetigenus*. 706  
 — —, Enzymgärung. 475  
 — — *acidi lactici* Grotenfeldt, Wirkung von Formalin. 635  
 — — *ascendens*, Enzymgärung. 475  
 — — Henneberg, Ursache des Farbeverlustes bei roten Weinen. 794  
 — — *atherstonei*, Schleimbildung. 794  
 — — *chlorometamorphicum* n. sp. Macchiati, Biologie. 268  
 — — *coli*, Stickstoffumsetzung. 433  
 — —, Wirkung der Milch. 500  
 — — *commune*, Rolle bei der Proteinfäulnis. 742  
 — — —, Wirkung von Wasserstoffsperoxyd. 29. 173  
 — — *fluorescens*, Stickstoffumsetzung. 433  
 — — Güntheri ähnlicher Mikroorganismus, Vorkommen im Mazun, Biologie und Morphologie. 597  
 — — — Typus, Vorkommen im Mazun. 582  
*Bacterium Güntheri*, Vorkommen in Milch mit bitterem Geschmack. 716  
 — —, Vorkommen in Milch mit Hundegeruch. 713  
 — —, Vorkommen in Milch mit Käsegeschmack. 720  
 — — K, Schleimbildung. 647  
 — — *lactis acidi* Leichmann, Vorkommen bei der Reifung des Harzkäses. 790  
 — — — aërogenes, gasbildende, fadenziehende Varietät, Ursache der nachträglichen Käseblähung. 600  
 — — — Escherich, Vorkommen in Milch mit Käsegeschmack. 720  
 — — *lucens* Nüesch s. *Bacterium phosphorescens* Fischer. 296  
 — — *mesentericum* s. *Bacillus mesentericus panis viscosi*. 383  
 — — *metarabinum*, Gummibildung. 647  
 — —, Schleimbildung. 647  
 — —, Milchsäure-, Vorkommen in Mazun, Biologie und Morphologie. 595  
 — — *panis* n. sp. Fuhrmann, Einfluß des Säure- oder Milchgehaltes des Substrates auf das Wachstum. 396  
 — — — —, Erreger des Fadenziehens des Brotes. 2. 385. 538  
 — — — —, Infektionsversuche an Brot. 538  
 — — — —, Pathogenität für Tiere. 399  
 — — — —, Stickstoff- und Kohlenstoffbedürfnis. 397  
 — — — —, Vorkommen im Mehl. 539  
 — — — —, Wachstum auf verschiedenen Nährsubstraten. 390  
 — — *pararabinum*, Schleimbildung. 647  
 — — *pasteurianum*, Enzymgärung. 475  
 — — *persicae*, Schleimbildung. 647  
 — — Pflügeri (Ludwig) Reinelt, Biologie und Morphologie. 297  
 — — — —, Leuchtfähigkeit. 293  
 — — *phosphorescens* Fischer, Biologie und Morphologie. 296  
 — — — —, Eigenbewegung. 292  
 — — — —, Leuchtfähigkeit. 292  
 — — *phosphoreum* (Cohn) Molisch, Biologie und Morphologie. 295  
 — —, Lichtentwicklung. 648  
 — — *prodigiosum*, Stickstoffbedarf. 783  
 — — *putidum*, Stickstoffumsetzung. 433  
 — — *sacchari*, Vorkommen beim Zuckerrohr. 795  
 — — *thermo*, Rolle bei der Proteinfäulnis. 742  
 — — *ureae*, Kohlenstoffbedarf. 779  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Vorkommen im Wasser. 705  
 — — *vascularum* Cobb., Zuckerrohrschädling. 795  
 — — *visco-fucatum*, Farbstoffbildung. 519  
 — —, Invertasebildung. 534  
 — — n. sp. Harrison et Barlow, kulturelles Verhalten. 518  
 — — — Harrison et Barlow, Morphologie. 517  
 — —, Schleimbildung. 524

- Bacterium vulgare**, Rolle bei der Proteinfäulnis. 742  
 —, —, Stickstoffumsetzung in Knochenmehl. 433  
**Bakterien**, anaerobe, Apparat für ihre Kultur. 337  
 —, —, Züchtungsmethode. 249  
 —, Anaerobiose, Sauerstoffbedürfnis. 644  
 —, Antagonismus. 244  
 — zur Bekämpfung der Rattenplage. 503  
 —, Bestimmung der Sauerstoffminima für Keimung etc. 337  
 —, Beziehungen zum Säuregrad der Milch. 476  
 —, Bildung von Alkohol. 300  
 —, Bildung der Gummiarten der Arabingruppe. 380  
 —, Bildung von Schleim. 793  
 —, Bindung des Luftstickstoffes. 478  
 —, Bindung von Stickstoff. 477. 738  
 —, Biochemie. 647  
 —, Buttersäure-, Auftreten in der Milch. 68  
 —, —, Bildung von Fuselöl. 311  
 —, —, Systematik. 308  
 —, —, Vorkommen in der Maische. 261  
 —, Denitrifikation. 745  
 —, Einfluß eines Verteilungsreservoirs auf die Menge. 246  
 —, Einfluß auf die Konzentration der Nährböden. 660  
 —, Eisen-, Beschreibung. 745  
 —, —, Vorkommen in Wasserleitungen. 565  
 —, Entwicklung. 553  
 —, Färbung im mikroskopischen Gesichtsfelde. 249  
 —, Farbstoff bildende. 1  
 —, —, Stoffwechsel. 243  
 —, Farbstoffbildung. 517  
 —, Grundsätze zur Einteilung. 240  
 —, Gummibildung. 794. 796  
 —, Kern. 550  
 —, Leucht-. 289  
 —, Lichtentwicklung. 648  
 —, Methan als Kohlenstoffnahrung derselben. 513  
 —, Methanbildung. 675  
 —, Methode, ihre Zuckervergärfähigkeit zu bestimmen. 248  
 —, Milch als Nährboden. 661  
 —, Milch-, Notwendigkeit einer ordentlichen Klassifizierung. 641  
 — der Milch, Wirkung von Formalin. 629  
 —, Morphologie. 243  
 —, Nitrifikation. 742  
 —, Oxydation von Wasserstoff und Methan. 573  
 — der Prager Wasserleitung, Bau. 544  
 —, Reduktion von Sulfaten. 746  
 —, Rolle bei der Braunheubereitung. 752  
 —, Rolle bei der Proteinfäulnis. 741  
 —, Rolle bei der Reifung des Edamerkäses. 321  
 —, Rolle bei der Reifung des Harzkäses. 789  
**Bakterien**, Rolle beim Sauerwerden der Milch. 400  
 —, Schleimbildung. 517  
 —, Stickstoffbindung. 70  
 —, stickstoffsammelnde, Lebensbedingungen. 235  
 —, Stickstoffumsetzung in der Ackererde. 361. 430  
 —, Temperaturmaxima. 97  
 —, Temperaturoptima. 109  
 —, thermophile. 116  
 —, Ursache der Fettzersetzung im Boden. 59  
 —, Ursache des Hundegeruches der Milch. 712  
 —, Ursache des Käsegeruches der Milch. 709  
 —, Ursache des Kirschensterbens. 376  
 —, Ursache der Weintrübung. 474  
 —, Ursache der Weißfäule des Buchenholzes. 482  
 —, Vorkommen in abnormer Milch. 709  
 —, Vorkommen im Boden. 69  
 —, Vorkommen in Butter. 56  
 —, Vorkommen in den Eisenbahnbrunnen in Iowa. 246  
 —, Vorkommen bei Eiterungen. 245  
 —, Vorkommen in Hefenmaischen. 260  
 —, Vorkommen bei der Käsureifung. 145. 430  
 —, Vorkommen in Maische. 267  
 —, Vorkommen im Mazun. 579  
 —, Vorkommen in Mineralwässern. 266  
 —, Vorkommen in natürlichen Wässern von Ost-Massachusetts. 250  
 —, Vorkommen in öliger Butter. 517  
 —, Vorkommen im verdorbenen Brote. 385  
 —, Vorkommen in Wasser und Abwasser. 661  
 —, Vergärung von Harnstoff. 740  
 —, Vergärung von Holz. 651  
 —, Verhalten zu Sinigrin. 499  
 — zur Vertilgung von Ratten. 86  
 —, Wasser-, Biologie. 690. 777  
 —, Wirkung von Ozon. 662  
 —, Wirkung auf die Säuerung der Milch. 245  
 —, Wirkung von Wasserstoffsuperoxyd. 663  
 —, Zersetzung der Fette. 422  
 —, Zersetzung von Knochenmehl. 430. 433  
 —, Zusammensetzung des durch sie gebildeten Schleimes. 646  
**Bakterienprodukte**, Antagonismus. 244  
**Bakteroiden**, Beschreibung. 737  
 —, Bindung von Stickstoff. 478  
 — an Leguminosen. 268  
**Balaminus nucum L.**, Haselstrauchschädling. 656  
**Basidie**, biologischer Wert. 73  
**Basidiomyceten**, Mitosen und Protochromosomen. 467  
 —, Sporenverbreitung. 73  
**Baumwollenpflanze**, durch *Aletia argillacea* geschädigt. 274  
**Beggiatoa**, Biologie. 747  
**Beizversuche** an Weizen. 666



- Berberideen, Gallenbildung. 657  
 Bier, japanisches, Keimgehalt. 472  
 —, pasteurisiertes, Veränderungen. 84  
 —, Ursache der Trübung. 473  
 Bierwürze, Wirkung verschiedener Metalle. 349  
 Biochemie der Pflanzen. 647  
 Birnbaum, Hexenbesenbildung. 277  
*Bispora monilioides*, Schädling des Rotbuchenholzes. 482  
 Blei mit Hefe, Wirkung auf Bierwürze. 350  
 Boden, Bindung von Stickstoff durch Bakterien. 477  
 —, Feststellung der Stickstoffvermehrung. 498  
 —, Methanbildung. 676  
 —, Nitrifikation. 643  
 —, Stickstoffsammlung durch Bakterien. 478  
 —, Stickstoffumsetzung. 361. 430  
 —, Vorkommen von Bakterien. 69  
 —, Vorkommen von Wasserstoff oxydierenden Bakterien. 575  
 Bodenuntersuchung, bakteriologische, Methodik. 154  
 Borkenkäfer s. *Tomicus* und *Hylesinus*. 658  
 —, Vorkommen in Kärnten. 282  
*Botrytis* auf Tyroglyphinen. 619  
 — *cinerea*, Vorkommen in der Luft. 266  
*Brachycolus stellariae* auf Triticum, Gallenbildung. 280  
 Brand s. auch Brusone. 653  
 Branntwein, Gewinnung aus Obst. 477  
 Braunheubereitung, Rolle der Bakterien. 752  
 Braunrost des Roggens, durch *Pucc. disp.* verursacht. 480  
 — des Weizens, durch *Pucc. triticina* Eriks. verursacht. 480  
 Brot, Erreger des Fadenziehens. 385. 538  
 Brunssure der Pflanzen, Ursache. 77  
 Brusone des Reises, Ursache. 653  
 Brutschränke. 250  
 — für niedere Temperaturen. 236  
*Bryobia ribis* auf Stachelbeeren. 654  
 Butter, Ursache des Ranzigwerdens. 55  
 Buttersäure, Methangärung. 680. 686  
 Buttersäurebakterien s. Bakterien, Buttersäure.  
*Calandra Oryzae*, Schädling des La-Plata-Maises. 271  
*Caloptenus italicus*, Vorkommen in Charentes. 80  
*Camponotus akvapimensis* Mayr, Schädling der Kakaofrüchte. 492  
 — *brutus* Forel, Schädling der Kakaofrüchte. 492  
*Carpocapsa pomonana*, Bekämpfung. 668  
*Carpoglyphus passularum*, Widerstandsfähigkeit. 728  
*Catenularia fuliginea*, Vorkommen in der Luft. 266  
 Cecidien s. auch Zooecidien, Gallen.  
 Cecidien, Katalog. 649  
*Cecidomyia*-Arten, Gallenbildung an Berberideen. 657  
 Cellulose, Methangärung. 677. 684  
*Ceratomyces falcifera* n. sp. Thaxter auf *Berosus*. 646  
*Ceratonia siliqua*, Gallenbildung durch *Schizomyia Gennadii*. 281  
*Cercospora beticola* Sacc., Parasit der Zuckerrübe. 487  
*Chelonia caja*, Schädling der Weinrebe. 493  
*Chitonomyces dentiferus* n. sp. Thaxter auf *Laccophilus*. 645  
 — *Javanicus* n. sp. Thaxter auf *Laccophilus*. 645  
 — *spinosus* n. sp. Thaxter auf *Laccophilus*. 646  
*Chlamydothrix ochracea* Mig., Eisenbildung. 567  
*Chlorita flavesc.* s. *Typhlocyba flavesc.* 83  
*Chondromyces apiculatus* Thaxter, Vorkommen. 645  
 — *aurantiacus* B. A. C., Vorkommen. 645  
 — *catenulatus* n. sp. Thaxter auf Pappelholz. 644  
 — *crocatus* B. L. C. auf Pandanusfrüchten. 645  
 — *lichenicolus* Thaxter, Vorkommen. 645  
 — *muscorum* n. sp. Thaxter an Buchenstämmen. 644  
 — *pediculatus* n. sp. Thaxter auf Gänsekot. 644  
 — *sacchari* Speg., Identität mit *Chondromyces crocatus* B. L. C. 645  
 — *serpens* Thaxter, Vorkommen. 645  
 — *sessilis* n. sp. Thaxter auf faulem Holze. 644  
*Chormidium favosum*, Kern. 755  
 Cikadelliden, Vorkommen auf der Rebe. 83  
*Citromyces*, Bildung von Citronensäure. 65  
 Citronensäure, Bildung durch *Citromyces*. 65  
*Cladochytrium tuberculosum*, Bedeutung. 737  
*Cladosporium herbarum*, Vorkommen in der Luft. 266  
 Cladotricheen, Morphologie. 745  
*Clasterosporium amygdalearum* Sacc. s. *Coryneum Beijerinckii*. 366  
*Clostridium Pasteurianum*, Bildung von Alkoholen. 321  
 — —, Bindung von Stickstoff. 478  
 Coccaceen, Revision. 241  
*Cochylis ambiguella*, Bekämpfung in Frankreich. 449  
 — —, Vernichtung der Puppen. 86  
*Colletotrichum falcatum* Went, Ursache des roten Brandes des Zuckerrohres. 795  
*Coniophora cerebella*, Sporenverbreitung. 75  
*Coniothyrium Fuckelii*, Rosenschädling in Oesterreich. 489  
 — *Wernsdorffiae*, Ursache einer Rindenkrankheit der Rose. 275  
*Contarinia (Diplosis) corylina* Fr. Löw., Gallenbildung am Haselstrauche. 656  
*Coreomyces curvatus* n. g. et sp. Thaxter auf *Corisa*. 646

- Coryneum Beijerinckii*, Ursache des Gummiflusses bei Amygdaleen. 366  
*Cremogaster africana* Mayr var. nov. Winkleri, Schädling der Kakaofrüchte. 492  
*Crepidodera costatipennis* Jacoby, Schädling der Kakaofrüchte. 492  
Cyanophyceen, cytolog. Untersuchungen. 755  
*Cyclamen persicum*, Wirt von *Phyllosticta Cyclaminis*. 271  
*Cycloconium oleaginum*, Bekämpfung. 668  
*Cystobacter aureus* Thaxter = *Polyangium fuscum* (Schröt.) Zukal. 645  
— — Thaxter = *Polyangium vitellinum* Lk. 645  
— simplex Thaxter = *Polyangium simplex*. 645  
*Cytospora*, Ursache des Gummiflusses auf Kirschenzweigen. 374  
— *rubescens* Fr., Ursache des Kirschbaumbsterbens. 271  
*Daedalea mollis* s. *Trametes stercoides*. 483  
Dampfdestillation. 250  
Darrmalz s. Malz, Darr-. 472  
*Dematium pullulans*, Einfluß auf den Gummifluß bei Amygdaleen. 372  
— —, Schleimbildung. 647. 793  
Denitrifikation. 745  
*Depazea betaecola* D. C. s. *Cercospora beticola* Sacc. 487  
Desinfektion mittels Montanin. 283  
Diastase, chemische und physikalische Untersuchung. 641  
*Dimeromyces Labiae* n. sp. Thaxter auf *Labia minor*. 645  
— *minutissimus* n. sp. Taxter auf *Labia minor*. 645  
*Diplois corylina* s. *Contarinia corylina*. 656  
*Distichomyces Leptochiri* n. g. et sp. auf *Leptochirus*. 645  
Edamerkäse, Reifung. 321  
Eiche, Kropfbildung. 276  
Eichenkolbenlaus s. *Phylloxera coccinea* Heyd. 667  
Eichhörnchen s. auch *Sciurus vulgaris*. 659. 660  
Eisenbakterien, Beschreibung. 745  
Eiterung, Vorkommen von Bakterien. 245  
Eiweißstoffe, Methanzersetzung. 681  
Elateriden der Getreide, Bekämpfung. 667  
Emulsin, chemische und physikalische Untersuchung. 641  
*Endoblastodermasalmicolor*, Assimilierung von Selbstverdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
*Enteromyxa paludosa* Cienk., Morphologie. 277  
*Entomophthora grylli*, Parasit der Heuschrecke. 82  
Enzym, proteolytisches, Vorkommen im Darrmalze. 472  
Enzyme, chemische und physikalische Untersuchung. 641  
—, reduzierende, Beziehungen zur alkoholischen Gärung. 63  
Enzymgärung der Essigpilze. 475  
*Ephestia Kühniella*, Wirkung von Insektenpulver. 727  
*Epiblema cannabinum*, Gallenbildung. 279  
*Epicoccum purpurascens*, Vorkommen in der Luft. 266  
Erblichkeit, Studien. 353  
Erde, Garten-, Vorkommen einer anaëroben *Sarcina*. 473  
Erdgeruch, durch *Actinomyces odorifer* verursacht. 745  
Erhitzung, Selbst-, des Heues, Ursache. 568  
*Eriophyes curvatus*, Gallenbildung an Berberideen. 657  
— *Echii*, Gallenbildung. 281  
— *geranii* auf *Geranium sanguineum*, Gallenbildung. 78  
— *Thomasi* auf *Thymus Serpyllum*, Gallenbildung. 78  
— *vitis*, Ursache der Kräuselkrankheit der Reben. 623  
Essig, chemische und kryoskopische Untersuchungen. 66  
Essigpilze, Enzymgärung. 475  
Essigsäure, Bildung durch *Acetobacter plicatum*. 377  
—, Methangärung. 679. 685  
—, *Eucantharomyces Madagascariensis* sp. Thaxter auf *Callida* sp. 645  
*Eudemis botrana*, Bekämpfung in Frankreich. 449  
*Euproctis* Hbn., Schädling der Kakaofrüchte. 492  
*Eupteryx vitic.* s. *Typhlocyba vitic.* 83  
*Exoascus amentorum* auf *Alnus incana*, Gallenbildung. 759  
— *Cerasi* (Fuckel) Sadebeck, Hexenbesenbildung. 652  
— *epiphyllus* Sadebeck, Hexenbesenbildung auf Erlen. 652  
*Exobasidium Rhododendri* auf *Rhododendron ferrugineum* und *hirsutum*, Gallenbildung. 759  
Expedition, pflanzenpathologische, nach Westafrika, Reisebericht. 76  
Fadenziehen des Brotes, Erreger. 385. 538  
Färbung von Bakterien im mikroskopischen Gesichtsfelde. 249  
— von Geißeln. 249  
— von Mycelien mit Baumwollenblau. 283  
Färbungsvermögen lebender Hefezellen. 471  
Fäulnis, Protein-, durch Bakterien. 741  
Farbe, rote, Entstehung nach Gärung von Glukose. 242  
Farbstoff s. auch Pigment.  
— bildende Bakterien, Stoffwechsel. 243  
—, Bildung durch *Bact. visco-fucatum*. 514  
Fermente der Milch, Beeinflussung derselben durch Pasteurisation. 500  
Fette, Zersetzung. 53  
—, Zersetzung im Boden. 58  
—, Zersetzung durch Mikroorganismen. 422  
Fettsäuren, flüchtige, Bildung bei der Käse-reifung. 334  
Filterkerzen aus Amiantporzellan, Verwendbarkeit. 761

- Flüssigkeiten, gärende, Einfluß von Metallen. 349  
 Formaldehyd zur Milchkonservierung. 283  
 —, Wirkung auf Hefen. 664  
 Formalin, Wirkung auf den Bakteriengehalt der Milch. 629  
 Fungi imperfecti, Zusammenhang mit Ascomyceten. 336  
 Fusarium betae Rabenh., Ursache der Blattflecken bei Rüben. 488  
 — erubescens Appel et Oven n. sp., Tomatenschädling. 491  
 — roseum, Vorkommen in der Luft. 266  
 Fuselöl, Bildung durch Buttersäurebakterien. 311  
 —, Bildung bei der Hefegärung. 305  
 —, Ursprung. 300  
 Gärkraft der Hefe, Anregung durch Reizmittel. 64  
 Gärung, alkoholische, Beziehungen der reduzierenden Enzyme. 63  
 —, Einfluß des Kolophoniums. 642  
 —, Entstehung roter Farbe. 242  
 —, Enzym-, der Essigpilze. 475  
 —, fehlerhafte, bei Beerenweinen. 474  
 — des Harnstoffes. 740  
 — des Holzes durch Bakterien. 651  
 —, durch Mucorineen verursacht. 8  
 —, Theorie. 748  
 —, zellfreie. 748  
 — von Zucker durch Bakterien. 248  
 Galactinia mucosa, Kernteilung. 649  
 — succosa, Ascusbildung. 72  
 —, Kernteilung. 753  
 Galerucella luteola, geschädigt durch Te-trastichus xanthomelaenae. 490  
 Gallen s. auch Zooecidien und Cecidien.  
 —, durch Aphiden erzeugt. 280  
 —, Pilz, physiologische Anatomie. 759  
 —, Stengel-, anatomische Untersuchungen. 78  
 —, Stengel-, seitliche, Anatomie und Morphologie. 497  
 —, Struktur der durch Tylenchus erzeugten. 281  
 Gallenbildung. 649  
 — an Berberideen. 657  
 — am Haselstrauche. 656  
 — an Ranunculaceen. 657  
 Gallertbildungen in Säften der Zuckerfabriken. 66  
 Gallionella ferruginea Ehrbg., Ursache der Rostbildung in Wasserleitungen. 565  
 Gallmilben des Haselstrauches. 656  
 Geißelfärbung, Ausstrichpräparate. 249  
 Gelbrost, durch Pucc. glumarum verursacht, Vorkommen. 480  
 Geräte, Helminthosporium gramineum als Ursache der Streifenkrankheit. 485  
 Getreidemilben s. Milben, Getreide-. 760  
 Getreideroste, Auftreten im Jahre 1904. 483  
 —, Ursache. 480  
 Gioddu, fermentierte Milch. 750  
 Glasgefäße, Einfluß auf die Vermehrung von Bakterien. 692  
 Gloeosporium Ribis (Lib.), Auftreten und Bekämpfung. 84  
 — — — Mont. et Desm., Zusammenhang mit Pseudopeziza Ribis. 336  
 Glycyphagus prunorum Hering s. Glycyphagus spinipes. 609  
 — spinipes, Einfluß des Wassergehaltes der Futtermittel auf deren Vermehrung. 617  
 — —, Hungerzustand. 615  
 — — K., Kultur und Nachweis. 610  
 — —, Wassergehalt. 618  
 — —, Widerstandsfähigkeit gegen Gifte. 724  
 Gnomonia leptostyla (Fries) Ces. et de Not., Zusammenhang mit Marssonina Juglandis (Lib.) Sacc. 336  
 Gnomoniella tubiformis (Tode) Sacc., Zusammenhang mit Leptothyrium alneum (Lév.) Sacc. 336  
 Goitre s. Wurzelkropf. 486  
 Goldregen, geschädigt durch Hylaetinus fankhauseri Reitter. 495  
 Gongrophytes quercina, Ursache des Kropfes der Eiche. 276  
 Granakäse = Käse, Grana-. 791  
 Granulobacillus, Auftreten in der Milch. 68  
 Granulobacter butylicum, Bildung von Butylalkohol. 312  
 — mobilis von liquefaciens, Bildung höherer Alkohole. 309  
 Gürtelschorf der Zuckerrübe, Ursache. 653  
 Gummi arabicum, Methangärung. 678. 685  
 —, Bildung durch Bakterien. 794. 796  
 Gummiarten der Arabingruppe, bakteriologischer Ursprung. 380  
 Gummifluß bei Amygdaleen, Ursache. 366  
 — der Obstbäume. 480  
 —, Vergleichung mit dem Gummiharzflusse. 374  
 Gummiharzfluß, Vergleichung mit dem Gummiflusse. 374  
 Haltica ampelophaga, Bekämpfung durch Arsenikbrühe. 85  
 Hansenia apiculata, Assimilierung von Selbstverdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
 Harnstoff, Vergärung. 740  
 Harzkäse s. Käse, Harz-. 786  
 Haselnußbohrer s. Balaminus nucum. 656  
 Haselstrauch, Gallenbildung. 656  
 Hausschwamm, Verbreitung in Rußland. 269  
 Hefe, Anregung der Gärkraft. 64  
 —, Atmung. 469  
 —, Aufsammlungsvermögen für Farbstoffe und Schwermetallsalze. 471  
 —, Bier-, Assimilierbarkeit der Selbstverdauungsprodukte durch Hefen und Pilze. 797  
 —, Einfluß verschiedener Zuckerlösungen auf die Tötungstemperatur. 62  
 —, Empfindlichkeit gegen Säuren. 264  
 —, Mazun-, Biologie und Morphologie. 594  
 —, Morphologie und Physiologie. 747  
 —, Ober- und Unter-. 353

- Hefe, Pression und Tension. 419  
 —, Rein-, Verbreitung in den Sudeten-  
 ländern. 64  
 —, Rolle bei der Reifung des Harzkäses. 786  
 —, Selbstverdauung. 266. 469  
 —, tote, Oxydation. 469  
 —, Turgorregulation. 419  
 —, Wirkung von Formaldehyd. 664  
 Hefenmaischen, bakteriologische Unter-  
 suchung. 260  
 Hefereinzucht, natürliche, Verfahren. 643  
 Hefereinzuchtstation Geisenheim, Tätig-  
 keit. 504  
 Hefezellen, Vorkommen von Vakuolen. 61  
 Helminthosporium avenae Briosi et Cav.,  
 Schädling des Hafers. 480  
 — carpophilum Aderh. s. Coryneum Beijer-  
 rinckii. 366  
 — gramineum Rabenh., Beziehung zu  
 Pleospora trichostoma Wint. 485  
 — — —, Ursache der Streifenkrankheit  
 der Gerste. 480. 485  
 — teres, Schädling der Gerste. 480  
 Helvella ephippium, Ascusbildung. 72  
 Herponyces Anaplectae n. sp. auf Ana-  
 plecta. 645  
 — Nyctoborae n. sp. Thaxter auf Nycto-  
 bora latipennis. 646  
 — Phyllodromiae n. sp. Thaxter auf  
 Phyllodromia. 646  
 — Platyzosteriae n. sp. auf Platyzosteria  
 ingens. 646  
 Heterobotrys, Vorkommen in der Luft. 266  
 Heterodera radicola Greef, Schädling der  
 Weinrebe. 494  
 Heu, Braun-, Bereitung, Rolle der Bak-  
 terien. 752  
 —, Ursache der Selbsterhitzung. 568  
 Heuschrecken, Bekämpfungsmittel. 282  
 —, Vorkommen in Charentes. 80  
 Hexenbesen auf Prunus Padus L., Ur-  
 sache. 651. 652  
 —, Vorkommen an Birnbäumen. 277  
 —, Vorkommen an Syringen in Bayern. 270  
 Hexenbesenbildung. 652  
 Histogaster entomophagus subsp. sper-  
 maticus, Vorkommen in einer Geschwulst.  
 623  
 Histiotoma Feroniarum, Ursache des  
 Wurzelkropfes der Zuckerrübe. 486  
 Holz, Krankheiten etc. 481  
 —, Rotbuchen-, anatomische und myko-  
 logische Untersuchungen. 482  
 —, Vergärung durch Bakterien. 651  
 Hylastini, Vorkommen in Kärnten. 283  
 Hylastinus fankhauseri Reitter, Biologie.  
 495  
 Hylesini, Vorkommen in Kärnten. 283  
 Hylesinus piniperda, Generationsfrage. 659  
 Hylobius abietis, Anwendung von Fang-  
 kolben. 668  
 Hypnoiden, Beschreibung. 737  
 — an Leguminosen. 268  
 Hypoxylon coccineum, Schädling des Rot-  
 buchenholzes. 482  
 Janetiella thymicola auf Thymus Serpyllum,  
 Gallenbildung. 78  
 Ino ampelophaga, Schädling der Wein-  
 rebe. 493  
 Invertase, Bildung durch Bact. visco-fuca-  
 tum. 534  
 Ipin, Vorkommen in Kärnten. 283  
 Isolierung einer einzelnen Zelle unter dem  
 Mikroskop, Vorrichtung. 760  
 Isosoma graminicola auf Agropyrum re-  
 pens, Gallenbildung. 78  
 Käse, Edamer-, Reifung. 321  
 —, Grana-, Reinkulturen zur Herstellung.  
 791  
 —, Harz-, Reifung. 786  
 —, Reifungsprozeß, Bedeutung der direkten  
 mikroskopischen Präparate für dessen  
 Studium. 143. 430  
 —, Ursache, Fettzersetzung. 57  
 Käseblähung, nachträgliche, Ursache. 600  
 Kakao, geschädigt durch Erdratten. 657  
 Kakaofrüchte, tierische Schädlinge. 492  
 Kartoffel, Ursache der Tuberkelbildung.  
 491  
 Kartoffelkrankheiten, Erreger. 479  
 Katalase der Milch. 267  
 Keimung von Bakterien, Bestimmung der  
 Sauerstoffminima. 337  
 Kernobst, Phytophthora-fäule. 435  
 Kernteilung bei Ascomyceten. 753. 754  
 — bei Saccharomyces ellipsoideus I. 769  
 Kiefer, geschädigt durch Aradus cinnamo-  
 meus Panz. 658  
 Kiefern-rindenwanze s. Aradus cinnamomeus  
 Panz. 658  
 Kiefern-schütte-pilz an der Arve. 270  
 Kienzopf, Bekämpfung. 502  
 Kirschbaumsterben, Bac. spongiosus als  
 Ursache. 376  
 —, Cytospora rubescens als Ursache. 271  
 Knochenmehl, Zersetzung durch Bakterien.  
 430. 433  
 Kochsalz, Verteilung im Käse bei der  
 Reifung. 330  
 Kohl, Hernie, Kropf. 652  
 Kolophonium, Wirkung auf Bakterienver-  
 unreinigungen bei der Gärung. 642  
 Krautern des Weinstockes, Ursache. 492  
 Krebs der Obstbäume. 480  
 Kronenrost des Hafers, durch Pucc. coro-  
 nifera avenae Erika. verursacht. 480  
 Kropfbildung bei der Eiche, Ursache. 276  
 Kropfkrankheit des Kohls, Bekämpfung.  
 652  
 Kulturmanometer. 343  
 Kulturmilchsäurebacillus s. Bacillus Del-  
 brücki. 260  
 Kulturvakuum. 341  
 Kupfer + Eisen, Wirkung auf Bierwürze.  
 350  
 — + Zink, Wirkung auf Bierwürze. 350  
 Laboratoriumseinrichtungen. 247  
 Laboulbenia bilabiata n. sp. Thaxter auf  
 Brachinus armiger. 646  
 — Claeophora n. sp. Thaxter auf Dineutes  
 solitarius. 646

- Laboulbenia olivacea* n. sp. Thaxter auf *Lebia*. 646  
 — *pallidescens* n. nom. auf *Clivina*. 646  
 — *pallida* Thaxter = *Laboulbenia pallidescens*. 646  
 — *pusilla* n. sp. Thaxter auf *Brachinus scotomedes*. 646  
 — *rotundata* n. sp. Thaxter auf *Dineutes spinosus*. 646  
*Laboulbeniaceen*, neue Species. 645  
 Läusekopf, Morphologie. 495  
*Lappenrüssler* s. *Otiorrhynchus sensitivus*. 659  
*Lasioptera berberina*, Gallenbildung an *Berberideen*. 657  
*Leguminosen*, Stickstoffsammlung. 178. 215  
 —, Vorkommen von *Hyphoiden* und *Bakteroiden*. 268  
*Leptothyrium alneum* (Lév.) Sacc., Zusammenhang mit *Gnomoniella tubiformis*. 336  
*Lestes viridis*, Auskriechen der Larven. 279  
 — —, Eierlegen. 280  
 — —, Entwicklung der Larven. 657  
 — —, Gallenbildung. 279  
*Leuchtbakterien*. 289  
*Leuconostoc mesenteroides*, Schleimbildung. 647  
 Licht, Einfluß auf die Vermehrung von *Wasserbakterien*. 694  
 —, Wirkung auf *Bact. visco-fucatum*. 537  
 —, Wirkung auf Enzyme. 641  
 Lichtentwicklung in den Pflanzen. 648  
*Lita atriplicella*, Schädling der Rübe. 274  
*Livia juncorum*, Deformationenbildung auf der Wirtspflanze. 490  
*Lonchaea lasiophthalma* auf *Cynodon Dactylon*, Gallenbildung. 78  
*Lophodermium Pini*, Schädling der Arve. 270  
*Loranthus aphyllus*, Anatomie und Biologie. 494  
 Luft, Gehalt an Pilzkeimen. 266  
 —, Sterilisierung durch Ozon. 662  
 Luftpumpe zur Kultur von *Anaëroben*. 337  
 Luftstickstoff, Nutzbarmachung durch *Bakterien*. 478  
*Lysol* zur Zerstörung der Eier von *Phylloxera*. 667  
*Macrosiphum sonchi*, auf *Sonchus oleraceus*, Gallenbildung. 280  
*Macrosporium cladosporioides*, Vorkommen in der Luft. 266  
*Macrozamia-Gummi*, Bildung durch *Bakterien*. 796  
 Mäuse, Bekämpfung durch *Bac. typhi murium*. 503  
 Mäuseplage, neue Art der Anwendung des *Bac. typhi murium*. 502  
 Mais, La-Plata-, Schädlinge. 271  
 Maische, Hefe-, bakteriologische Untersuchungen. 260  
 Malz, Darr-, Vorkommen eines proteolytischen Enzyms. 472  
 —, Dauer der Tennenführung. 472  
*Marssonina Juglandis* (Lib.) Sacc., Zusammenhang mit *Gnomonia leptostyla* (Fries). 336  
*Mazun*, armenisches, bakteriologische Untersuchungen. 577  
*Mazunhefe* s. Hefe, *Mazun*-. 594  
 Mehl, Vorkommen von *Bacterium panis* Fuhrmann. 539  
 Mehltaupilz s. *Sphaerotheca mors-uvae*. 655  
*Melampsora Bigelowii* Thüm., Formenkreis. 650  
 — *Larici-Reticulatae*, Biologie, Infektionsversuche. 233  
 — *Ribesii-Grandifoliae*, Biologie, Infektionsversuche. 233  
*Melampsorella Caryophylloearum* Schröter, Hexenbesenbildung auf *Weißtanne*. 652  
*Melampsoren*, Weiden-, Infektionsversuche. 232  
*Melampyrum pratense*, Biologie. 759  
*Merulius lacrimans*, Sporenverbreitung. 75  
 Metalle, Einfluß auf gärende Flüssigkeiten. 349  
 Metallsalze, Aufspeicherung in lebenden Hefezellen. 472  
 Methan als Kohlenstoffnahrung für *Bakterien*. 513  
 —, Oxydation durch *Bakterien*. 573  
 Methanausscheidung bei Zersetzung von *Milchzucker*. 681  
 Methanbildung bei biologischen Prozessen. 673  
 Methangärung der *Buttersäure*. 680. 686  
 — der *Cellulose*. 677. 684  
 — der *Essigsäure*. 679. 685  
 — des *Gummi arabicum*. 678. 685  
 — der *Milchsäure*. 680  
 Methanzersetzung der *Eiweißstoffe*. 681  
*Micrococcus aquatilis*, Kohlenstoffbedarf. 780  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Verhalten im Wasser. 700  
 — *candicans*, Stickstoffumsetzung. 433  
 — *citreus rigensis*, Farbstoffbildung. 7  
 — — n. sp. *Bazarewski*, Morphologie und Physiologie. 5  
 — *Pflügeri* s. *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch. 295  
 — — *Ludw.* s. *Bacterium phosphorescens* Fischer. 296  
 — *lucens* v. *Tieghem* s. *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch. 295  
 — *phosphoreus* Cohn s. *Bacterium phosphorescens* Fischer. 296  
 — — s. *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch. 295  
 — *prodigosus*, Kohlenstoffbedarf. 779  
 — *pyogenes citreus*, Wirkung von *Formalin*. 637  
 Mikrokokken, Vorkommen bei der Reifung des *Harzkäses*. 789  
 Mikrolepidopteren, ampelophage, Bekämpfung in Frankreich. 449  
 Mikroorganismen, Assimilation elementaren Stickstoffes. 33. 174. 215  
 —, Oxydation von *Wasserstoff* und *Methan*. 573

- Mikroorganismen, Stickstoffsammlung ohne Symbiose mit Leguminosen. 33. 174  
 —, Vorkommen im Wasser. 661  
 —, Zersetzung der Fette. 422  
 Milben der Familie der Tyroglyphinae, Lebensweise. 606. 723  
 —, Getreide-, in Bayern 1905. 760  
 —, Kultur und Nachweis. 610  
 —, Pathogenität. 622  
 —, Wirte von Pilzen. 619  
 Milbenkrankheit der Reben, durch Phyllocoptes vitis verursacht. 623  
 Milbenspinne s. auch Bryobia ribis. 654  
 —, Fichtenschädling. 270. 276  
 Milch s. auch Mazun. 577  
 — von abnormer Beschaffenheit, bakteriologischer Befund. 709  
 —, Auftreten von Mikroorganismen. 68  
 —, bakterizide Wirkung. 500  
 —, Beziehung der Bakterien zum Sauerwerden. 400  
 —, Beziehungen der Bakterien zum Säuregrad. 476  
 —, Biochemie. 750  
 —, biologische und biochemische Studien. 68. 476  
 — mit bitterem Geschmack, bakteriologischer Befund. 716  
 —, fermentierte, Bereitung. 750  
 — mit Geschmack nach Glarner Schabzieger, bakteriologischer Befund. 719  
 — mit Hundsgeschmack, bakteriologischer Befund. 712  
 —, Katalase. 267  
 —, Konservierung durch Formaldehyd. 283  
 —, Konservierung durch Wasserstoffsuperoxyd. 663  
 —, nach Limburger Käse riechend, bakteriologischer Befund. 709  
 — als Nährboden für Bakterien, Homogenisierung. 661  
 —, Nährwert von roher und gekochter. 642  
 —, Säuerung durch Bakterien verursacht. 245  
 —, Säuregrad. 476  
 —, Sterilisierung mit Wasserstoffsuperoxyd. 20. 165. 639  
 —, Wirkung des Formalins auf den Bakteriengehalt. 629  
 —, Wirkung der Pasteurisation auf ihre biologischen Eigenschaften. 500  
 —, Wirkung der Pasteurisation auf Tuberkelbacillen. 500  
 —, Zerlegungsphasen. 68  
 Milchkulturen s. Bakterien, Milch-.  
 Milchfehler, Ursache. 709  
 Milchprüfer, Patent Fliegel zur Bestimmung des Schmutzgehaltes. 498  
 Milchsäure, Bildung bei der Käsebereitung. 331  
 —, Methangärung. 680  
 Milchsäurebakterium s. Bacterium, Milchsäure-. 595  
 Milchsäureverfahren, Vervollkommnung. 267  
 Milchzucker, Methanausscheidung unter Einwirkung von Bakterien. 681  
 Milchzuckerhefe, Vorkommen bei der Reifung des Harzkäses. 789  
 Milzbrandbacillus s. Bacillus anthracis. 244  
 Mineralwässer, Keimgehalt. 266  
 Mitosen, heterotypische, bei Basidiomyceten. 467  
 Monilia, Wirkung in der Milch. 68  
 — -Arten, Vorkommen in der Luft. 266  
 — fructigena, Ursache des Gummiflusses auf Aprikosenzweigen. 374  
 — — Pers., Zusammenhang mit Sclerotinia fructigena (Pers.) Schröt. 275  
 — laxa Ehrenb., Zusammenhang mit Sclerotinia laxa (Ehrenb.) Aderh. et Ruhl. 275  
 Monoicomyces Leptochiri n. sp. Thaxter auf Leptochirus. 645  
 — similis n. sp. Thaxter auf Homalota sp. 645  
 Montanin als Desinfektionsmittel. 283  
 Moor, Entstehung und Vegetationsverhältnisse. 643  
 Moose, Bindung von Stickstoff. 478  
 Mosaikkkrankheit des Tabaks, Bekämpfung. 272. 440  
 Most, Pasteurisieren. 501  
 —, Sterilisierung. 665  
 Mucor javanicus, Gärung. 8  
 — —, Verhalten gegen verdünnten Alkohol. 471  
 — mucedo, Kohlenstoffbedarf. 779  
 — —, Phosphorbedarf. 784  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — racemosus, Vorkommen in der Luft. 266  
 Mucorineen, Auftreten in der Milch. 68  
 Mucorineengärung. 8  
 Mycel, Färbung mit Baumwollenblau. 283  
 Mycena galericulata, Mitosen. 468  
 Mycoderma, Assimilierung von Selbstverdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
 —, Vorkommen im Biere. 472  
 Mycosphaerella sentina (Fries) Schröter, Zusammenhang mit Septoria nigerrima Fuck. 336  
 Mykologie, technische, Handbuch. 737  
 Myricomyia mediterranea auf Erica vagans, Gallenbildung. 78  
 Myxobacteriaceae, Beschreibung. 644  
 Myxococcus disciformis n. sp. Thaxter auf Rattenkot. 645  
 — ruber Baur, Identität mit Myxococcus rubescens Thaxter. 645  
 — rubescens Thaxter, Identität mit Myxococcus ruber Baur. 645  
 Nadelholzkulturen, Bekämpfung der Schädlinge mit Quarzmehl. 502  
 Nährboden, Einfluß der Bakterien auf die molekulare Konzentration. 660  
 —, Milch als Nährboden für Bakterien, Homogenisierung. 661  
 Nährböden. 242  
 Nectria ditissima, Ursache der Kropfbildung. 276  
 Nitrifikation s. auch Stickstoff. 742

- Nitrifikation im Boden. 643  
 Nostoc commune, Kern. 755  
 — verrucosum, Kern. 755  
 Obst, Kern-, Phytophthora-fäule. 435  
 —, Verarbeitung auf Branntwein. 477  
 Obstbäume, Gummifluß und Krebs. 480  
 —, Schädlinge. 649  
 —, Ursache d. Wurzelkropfbildung. 652  
 Obstmade s. Carpocapsa pomonana. 668  
 Oecophylla smaragdina Fabr. var. longinoda Latr., Schädling der Kakaofrüchte. 492  
 Oelbaum, bakterizide Wirkung des Saftes gegenüber dem Bac. oleae. 209  
 —, Schutzreaktion gegen den Bac. oleae. 208  
 —, Tuberkelkrankheit. 200  
 —, Tuberkelkrankheit, Biologie des Erregers. 198  
 Oelbaumbacillus s. Bacillus oleae.  
 Oidium lactis, Assimilierung von Selbstverdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
 — —, Auftreten in der Milch. 68  
 — —, Vorkommen im Mazun. 579  
 — —, Vorkommen bei der Reifung des Harzkäses. 788  
 — — cerebriforme, Vorkommen bei der Reifung des Harzkäses. 789  
 Oligotrophus taxi auf Taxus baccata, Gallenbildung. 78  
 Oospora - Arten, Beziehung zum Gürtelschorf der Zuckerrüben. 654  
 Orchideen, Einfluß von Pilzen auf die Entwicklung. 68  
 —, Vorkommen von Endophyten. 756  
 Osyris alba, Anatomie und Biologie. 79  
 Otiorrhynchus sensitivus Scop. syn. planatus Herbst, Larve. 659  
 Oxalsäurebildung durch Aspergillus niger. 688  
 Oxydation, tote, bei der Hefe. 469  
 Ozon zur Sterilisierung von Wasser und Luft. 662  
 Paraplectrum foetidum, Ursache des Käsegeruches der Milch. 709  
 Pasteurisation von Most und Wein. 501  
 —, Wirkung auf die biologischen Eigenschaften der Milch. 500  
 Pediculoides Avenae, Auftreten in Bayern 1905. 760  
 — graminum, Auftreten in Bayern 1905. 760  
 Pediococcus, Vorkommen in Hefemaischen. 265  
 Peltigera canina, Kernteilung. 753  
 Pemphigus affinis, Deformationenbildung auf der Wirtspflanze. 490  
 — bursarius, Deformationenbildung auf der Wirtspflanze. 490  
 — pyriformis, Deformationenbildung auf der Wirtspflanze. 490  
 — spirothecae, Deformationenbildung auf der Wirtspflanze. 490  
 Penicillium crustaceum L. s. Penicillium glaucum. 619  
 — glaucum, Auftreten in der Milch. 68  
 — — auf Tyroglyphinen. 619  
 Penicillium glaucum, Vorkommen in der Luft. 266  
 — —, Vorkommen bei der Reifung des Harzkäses. 788  
 — —, Zersetzung der Fette. 424  
 — (luteum?), Zersetzung der Fette. 425  
 Penthimia atra Fabricius, Vorkommen auf der Rebe. 83  
 Peptonlösungen, faulende, Stickstoffverlust. 154  
 Peronospora viticola, Auftreten und Bekämpfung. 655  
 — —, Bekämpfung. 667  
 Perrisia capitigena auf Euphorbia cyparissias, Gallenbildung. 78  
 — ericaescopariae auf Erica scoparia, Gallenbildung. 78  
 — ericina auf Erica arborea, Gallenbildung. 78  
 — genisticola auf Genista tinctoria, Gallenbildung. 78  
 Petrischalen, poröse Deckel. 249  
 Peziza, Ascusbildung. 72  
 — catinus, Ascusbildung. 649  
 — leucomelas, Ascusbildung. 649  
 — rutilans, Kernteilung. 754  
 — vesiculosa, Ascusbildung. 72  
 — —, Kernteilung. 753  
 — Willkommii, Ursache des Kropfes der Lärchen. 276  
 Pflanzen, Biochemie. 617  
 —, Lichtentwicklung. 648  
 —, verletzte, Atmung. 468  
 Pflanzenkrankheiten I und II, Erreger. 479. 480  
 —, Handbuch. 756  
 —, Jahresbericht. 758  
 Pflanzenschädlinge, Katalog. 649  
 Pflanzenschutz in Bayern, Organisation. 501  
 Phloeophthora Syringae n. sp. Klebahn, Schädling der Syringen. 335  
 Phoma betae, Schädling der Rübenkeimpflänzchen. 273  
 Photobacterium italicum Foà et Chiapella s. Pseudomonas italica (Foà et Chiapella) Reinelt. 299  
 — Pflügeri Ludw. et Beijer. s. Bacterium Pflügeri. 293  
 — phosphorescens Beijer. s. Bacterium phosphorescens Fischer. 292  
 — — s. Bacterium phosphoreum (Cohn) Molisch. 295  
 Phragmidium Rosae-alpinae, Keimkraftdauer der Aecidiosporen. 650  
 Phyllocoptes vitis n. sp. Nalepa, Ursache der Kräuselkrankheit der Reben. 623  
 Phyllosticta betae Oud., Ursache der Blattflecken bei Rüben. 488  
 — Cyclaminis Brun. auf Cyclamen persicum. 271  
 — Persicae, Einfluß auf den Gummifluß bei Amygdaleen. 372  
 Phylloxera, Zerstörung der Eier mittels Lysol. 667  
 — coccinea Heyd., Bekämpfung. 667

- Phytophthora omnivora* de Bary, Ursache der Kernobstfäule. 435  
 — Fäule, Kakao. 76  
*Phytoptus Avellanae* Nal., Gallenbildung am Haselstrauche. 656  
 — Loewi, Ursache der Hexenbesen der Syringen. 270  
 — vitis s. *Eriophyes vitis*. 623  
*Picea sitchensis*, geschädigt durch Milbenspinnen. 270. 276  
*Pichia membranaefaciens*, Assimilierung von Selbstverdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
*Pigment* s. auch Farbstoff.  
 —, durch *Bact. visco-fucatum* gebildet, chemisches Verhalten. 533  
 —, rotes, Produktion durch einen *Bacillus*. 193  
 Pilze, Endophyten von Orchideen. 756  
 Pilzgallen, physiologische Anatomie. 759  
 Pilzkeime, Vorkommen in der Atmosphäre. 266  
*Piricularia Oryzae*, Ursache des Reisbrandes. 653  
*Pirus*, Gallen. Bestimmungstabelle. 280  
*Pistacia*, Gallen, Bestimmungstabelle. 280  
*Planosarcina ureae*, Temperaturmaxima für Sporenkeimung und -bildung. 107  
 —, Temperaturoptimum. 109  
 —, Vorkommen in Wasserleitungen. 246  
*Plasmodiophora brassicae*, Bekämpfung. 652  
 — (*Pseudocommis*) vitis, Beziehung zur „Brunissure“. 77  
 Platten, anaërobe, Herstellungsmethode. 247  
 Platypodidae, Vorkommen in Kärnten. 283  
*Pleospora trichostoma* Wint., Beziehung zu *Helminthosporium gramineum* Rabenh. 484  
*Polyangium compositum* n. sp. Thaxter auf Kaninchenkot. 645  
 — fuscum (Schröt.) Zukal = *Cystobacter aureus* Thaxter. 645  
 — septatum n. sp. Thaxter auf Pferdemit. 645  
 — simplex = *Cystobacter simplex* Thaxter. 645  
 — sorediatum n. sp. Thaxter auf Kaninchenkot. 645  
 — vitellinum Lk. = *Cystobacter aureus* Thaxter. 645  
*Polyporus hirsutus*, Ursache der Weißfäule des Buchenholzes. 482  
 — vaporarius, Sporenverbreitung. 75  
 — versicolor, Ursache der Weißfäule des Buchenholzes. 482  
*Populus*, Gallen, Bestimmungstabelle. 280  
*Poria vaporaria*, Ursache der Rotfäule des Buchenholzes. 483  
 Preßhefenfabrikation, Stickstoffbilanz. 798  
 Proberöhrchen. 250  
 Proteinfäulnis durch Bakterien. 741  
*Proteus*-Gruppe, Vorkommen bei Eiterungen. 246  
 — vulgaris, Reduktion von Sulfaten. 746  
*Prunus*, Gallen, Bestimmungstabelle. 280  
*Prunus Padus*, Hexenbesenbildung. 651. 652  
*Pseudocommis* (*Plasmodiophora*) vitis, Beziehung zur „Brunissure“. 77  
*Pseudodiphtheriebacillen*, Vorkommen bei Eiterungen. 246  
*Pseudomonas campestris* (Pam.) Smith, Biologie. 240  
 — —, Ursache des Wurzelbrandes der Rüben. 273  
 — italica (Foà et Chiapella) Reinelt, Biologie und Morphologie. 299  
 — — — —, Geißelfärbung. 298  
*Psylla buxi*, Deformationenbildung auf der Wirtspflanze. 490  
*Pterophorus microdactylus*, Gallenbildung. 279  
*Puccinia adoxae* auf *Adoxa Moschatellina*, Gallenbildung. 759  
 — Arrhenateri (Kleb.) Eriks., Hexenbesenbildung auf Sauerdorn. 652  
 — Asparagi, Wirkung der Feuchtigkeit. 270  
 — centaureae DC., Kulturversuche. 257  
 — Chrysanthemi, Keimkraftdauer der Uredosporen. 650  
 — coronifera avenae Eriks., Ursache des Kronenrostes des Hafers. 480  
 — crepidicola auf *Crepis taraxacifolia*. 257  
 — crepidis auf *Crepis tectorum*. 257  
 — dispersa Eriks., Ursache des Braunrostes des Roggens. 480  
 — glumarum Eriks. und Henn., Ursache des Gelbrostes, Vorkommen. 480  
 — graminis Pers., Ursache des Schwarzrostes, Vorkommen. 479  
 — Helianthi Schw., Kulturversuche. 650  
 — Liliacearum Duby, Entwicklung. 230  
 — major Dietel auf *Crepis paludosa*. 257  
 — Podophylli, Formenkreis. 650  
 — Polygoni-amphibii Pers., Formenkreis. 650  
 — praecox Bubák auf *Crepis biennis*. 257  
 — simplex Eriks., Ursache des Zwergrostes, Vorkommen. 480  
 — Sorghi Schw., Formenkreis. 650  
 — Stipae Arth., Formenkreis. 650  
 — submitens Diet., Nährpflanzen. 650  
 — tomipara Trel, Formenkreis. 650  
 — triticea Eriks., Ursache des Braunrostes des Weizens. 480  
*Pucciniastrum* (*Thecospora*) Padi (Kze. et Schm.) Diet., Entwicklung. 227  
 Puccinien, *Crepis*- und *Centaurea*-, Kulturversuche. 257  
*Pustularia vesiculosa*, Ascusbildung. 72  
 — —, Kernteilung. 754  
*Ramularia betae* Rostrup., Ursache der Blattflecken bei Rüben. 488  
*Ranunculaceen*, Gallenbildung. 657  
 —, Wirte von Aecidien. 258  
 Ranzigwerden der Butter, Ursache. 56  
 Ratin, Bakterienpräparat, zur Rattenvertilgung. 86. 503  
 Ratten, Bekämpfungsmittel. 503  
 —, Erd-, Kakaoschädlinge. 657  
 —, Vertilgung durch Bakterien. 86



- Rebe, geschädigt durch Sphinxraupen. 655  
 —, Ursache der Milbenkrankheit. 623  
 Reblaus, Bekämpfung. 667  
 Reifung des Edamerkäses. 321  
 — des Harzkäses, Rolle der Mikroorganismen. 786  
 — des Käses. 143. 430  
 Reinkulturen aus einer unter dem Mikroskop isolierten Zelle. 760  
 — zur Herstellung des Granakäses. 791  
 Reis, Ursache des Brandes. 653  
 Reismehl, Schädlinge. 271  
 Rhachomyces Aphanopsis n. sp. Thaxter auf Aphanops cerberus. 646  
 — Javanicus n. sp. Thaxter auf einem Käfer. 646  
 Rhizobium an Leguminosen. 268  
 Rhizoctonia, Vorkommen auf Safranzwiebeln. 723  
 — violacea, Ursache der Rotfäule der Zuckerrübe. 272  
 Rhizopus nigricans, Auftreten in der Milch. 68  
 — — auf Tyroglyphinen. 619  
 — —, Vorkommen in der Luft. 266  
 Rhopalosiphum dianthi auf Chaerophyllum hirsutum, Gallenbildung. 280  
 — — auf Solanum nigrum, Gallenbildung. 280  
 — nymphae auf Sagittaria sagittifolia, Gallenbildung. 280  
 Rivularia bullata, Kern. 755  
 Rose, Coniothyrium Wernsdorffiae als Ursache einer Rindenkrankheit. 275  
 Rosen, geschädigt durch Coniothyrium Fuckelii. 489  
 Rost, weißer, des Tabaks, Ursache. 272  
 Rostbildung in den Wasserleitungsröhren, Ursache. 564  
 Roste, Getreide-, Auftreten im Jahre 1904. 483  
 —, —, Ursache. 480  
 Rübenblattwespe s. Athalia spinarum. 659  
 Rübenminiermotte s. Lita atriplicella. 274  
 Rübenmüdigkeit, Bekämpfung. 486  
 Saccharomyces anomalus, Tötungstemperatur. 52  
 — —, Vorkommen beim Sakebrennen. 266  
 — cerevisiae, Assimilierung von Selbstverdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
 — —, Kohlenstoffbedarf. 779  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Variation. 355  
 — —, Zusammenwirken mit dem Buttersäurebac. H. Pringsheim. 319  
 — croci, Vorkommen auf Safranzwiebeln. 723  
 — ellipsoideus I Hansen, Kernteilung. 769  
 — —, Tötungstemperatur. 62  
 — — Hansen, Wirkung von Formaldehyd. 665  
 — exiguus, Assimilierung von Selbstverdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
 — farinosus, Assimilierung von Selbstverdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
 Saccharomyces glutinis, Kohlenstoffbedarf. 779  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — hyalosporus, Assimilierung von Selbstverdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
 — Ludwigii, Assimilierung von Selbstverdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
 — Pastorianus, Tötungstemperatur. 62  
 — sardous n. sp. Grixoni, Vorkommen im „Gioddu“, Biologie. 751  
 — turbidans, Assimilierung von Selbstverdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
 — —, Variation. 357  
 — validus Hansen, Wirkung von Formaldehyd. 665  
 — Ludwigii, Variation. 354  
 Säuerung der Milch, Einwirkung von Bakterien. 245  
 Säuregrad der Milch, Abhängigkeit. 476  
 Säuren, flüchtige, Vorkommen im Weine und Bestimmung. 474  
 Sake, Vorkommen von Saccharomyces anomalus. 266  
 Saprolegnia Thureti, Biologie. 268  
 Saprophyten, Einfluß auf Wundreiz und Gummifluß bei Amygdaleen. 371  
 Sauerstoffbedürfnis der Bakterien. 644  
 Sauerwerden der Milch, Rolle der Bakterien. 400  
 Sauerwurm s. Cochylis ambiguella. 86  
 Sarcina alba, Kohlenstoffbedarf. 778. 780  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Verhalten im Wasser. 697  
 —, anaërobe, Vorkommen in frischer Gartenerde. 473  
 — -Infektion des Bieres, Ursache. 472  
 — flava, Kohlenstoffbedarf. 778  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Verhalten im Wasser. 697  
 —, gelbe, Vorkommen im Mazun. 579  
 — rosea, Kohlenstoffbedarf. 779  
 — —, Stickstoffbedarf. 783  
 — —, Vorkommen im Wasser. 705  
 Schimmelpilze, Vorkommen an Tyroglyphinae. 619  
 —, Zersetzung der Fette. 425  
 Schizomyia Gennadii n. sp. auf Ceratonia siliqua, Gallenbildung. 281  
 Schizoneura lanigera, Deformationenbildung auf der Wirtspflanze. 490  
 — lanuginosa, Deformationenbildung auf der Wirtspflanze. 490  
 Schizophyllum commune, Schädling des Rotbuchenholzes. 482  
 Schizosaccharomyces octosporus, Assimilierung von Selbstverdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
 — Pombe, Assimilierung von Selbstverdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
 — —, Tötungstemperatur. 62  
 Schleim, durch Bact. visco-fucatum gebildet, Natur desselben. 534  
 —, durch Bakterien gebildet, Zusammensetzung. 646  
 —, Bildung durch Bact. visco-fucatum. 517  
 —, Bildung durch Bakterien. 793

- Schütte, Bekämpfung. 284  
 Schüttekrankheit der Arve. 270  
 Schwarzrost, durch *Pucc. graminis* verursacht, Vorkommen. 479  
 Schwefel, Kreislauf. 745  
 Schwefelbakterien, Biologie. 746  
*Sciurus vulgaris*, Schädigungen. 659. 660  
*Sclerotinia cinerea*, Wirte. 275  
 — *fructigena* (Pers.) Schroet., Zusammenhang mit *Monilia fructigena* Pers. 275  
 — *laxa* (Ehrenb.) Aderhold et Ruhl, Zugehörigkeit zu *Monilia laxa* Ehrenb. 275  
*Scolytini*, Vorkommen in Kärnten. 283  
 Selbstverdauung der Hefe. 469  
*Semiclostridium citreum*, Vorkommen in Kuhmist. 67  
 — *commune* n. sp. Maassen, Gallertbildung. 67  
 — *flavum*, Vorkommen in Kuhmist. 67  
 — *rubum*, Vorkommen in Ackererde. 67  
 Senföf, Wirkung auf Bakterien. 499  
*Septoria betae* West., Ursache der Blattflecken bei Rüben. 488  
 — *Lycopersici* auf Tomatenblättern. 271  
 — *nigerrima* Fuck., Zusammenhang mit *Mycosphaerella sentina* (Fries). 336  
 Serodiagnostik der Stärke. 84  
 Silikatgelée als Nährboden. 242  
 Sinigrin als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle für Bakterien. 499  
*Siphocoryne pastinacae* auf *Salix caprea*, Gallenbildung. 280  
*Sitophilus granarius*, Wirkung von Anilin. 726  
*Sitotroga cerealella*, Schädling des La-Plata-Maises. 271  
 Sklerotinen, Obstbaum-, Zusammenhang. 275  
*Sphaerotheca mors-uvae* (Schw.) B. et C., Verbreitung. 655  
*Sphinx*, Rebenschädling in Algier. 658  
 — *lineata*, Schädling der Rebe. 655  
*Spirillum*, Rosettenbildung. 243  
 — *desulfuricans*, Isolierung. 746  
 Sporenbildung der Bakterien, Bestimmung der Sauerstoffminima. 337  
 —, Temperaturmaxima. 97  
 Sporenkeimung, Temperaturmaxima. 97  
*Sporotrichum*, Wirkung in der Milch. 68  
 Springwurm s. *Tortrix pilleriana*. 86  
 Stachelbeermehltauipilz s. *Sphaerotheca mors-uvae*. 655  
 Stärke, Serodiagnostik. 84  
 Stärkegelée als Nährboden. 242  
*Stereum hirsutum*, Schädling des Rotbuchenholzes. 482  
 — *purpureum*, Schädling des Rotbuchenholzes. 482  
 Sterilisator Otto, Anwendung. 662  
 Sterilisierung der Milch mit Wasserstoffsuperoxyd. 20. 165. 639  
 — von Mosten. 665  
 — von Wasser und Luft durch Ozon. 662  
 Stickstoff s. auch Nitrifikation.  
 —, Bindung durch Bakterien. 70. 738  
 Stickstoff, Bindung durch einen Bodenmikroorganismus. 70  
 —, Bindung durch Mikroorganismen. 477  
 —, elementarer, Assimilation durch Mikroorganismen. 33. 174. 215  
 —, Feststellung seiner Vermehrung im Ackerboden. 498  
 —, Luft-, Nutzbarmachung durch Bakterien. 478  
 —, Sammlung durch Leguminosen. 178. 215  
 —, Sammlung durch Mikroorganismen ohne Symbiose mit Leguminosen. 33. 174  
 —, Umsetzung im Boden. 361. 430  
 Stickstoffverlust in faulenden Peptonlösungen. 154  
*Stictococcus Sjöstedti* Cock, Schädling der Kakaofrüchte. 492  
*Stigmatomyces Elachipterae* n. sp. Thaxter auf *Elachiptera longula*. 646  
 — *micrandrus* n. sp. Thaxter auf einer Fliege. 646  
 — *pauperculus* n. sp. Thaxter auf einer Fliege. 646  
 — *Sarcophagae* n. sp. Thaxter auf *Sarcophaga* sp. 646  
 — *Venezuelae* n. sp. Thaxter auf *Limosina* sp. 646  
 Stoffwechsel farbstoffbildender Bakterien. 243  
*Streptococcus acidi lactici* Grotenfelt, Wirkung in der Milch. 68  
 — *Güntheri* s. *Bacterium Güntheri*. 582  
 — *hollandicus*, Schleimbildung. 647  
 — *hornensis*, Schleimbildung. 647  
 — *pyogenes*, Wirkung von Wasserstoffsuperoxyd. 29. 172  
*Streptothricheen*, Morphologie. 745  
 Struktur der Bakterien. 544  
*Syringa vulgaris*, Hexenbesenkrankheit. 270  
*Syringen*, geschädigt durch *Phloeophthora Syringae*. 335  
 Tabak, Bekämpfung der Mosaikkrankheit. 440  
 —, Ursache des weißen Rostes. 272  
*Tarsonemus*, Auftreten in Bayern 1905. 760  
 —, Einfluß des Wassergehaltes der Futtermittel auf dessen Vermehrung. 617  
 —, Hungerzustand. 615  
 —, Kultur und Nachweis. 610  
 —, Wassergehalt. 618  
 —, Widerstandsfähigkeit gegen Gifte. 724  
 — *ananas*, Vorkommen. 723  
 — *culmicolus* E. Reut., Schädling der Erdbeeren. 489  
 — *fragariae* n. sp. Zimmermann, Schädling der Erdbeeren. 489  
 Temperatur, Einfluß auf die Atmung verletzter Pflanzen. 468  
 —, Einfluß auf die bakterizide Wirkung von Wasserstoffsuperoxyd. 27  
 —, Einfluß auf die Vermehrung von Wasserbakterien. 694  
 —, Tötungs-, verschiedener Hefearten. 62  
 —, Wirkung auf den *Bac. Delbrücki*. 262  
 —, Wirkung auf *Bact. visco-fucatum*. 535

- Temperaturmaxima für Sporenbildung und -Keimung. 97  
 Temperaturminima für Sporenbildung und -Keimung. 140  
 Tetraneura ulmi, Deformationenbildung auf der Wirtspflanze. 490  
 Tetranychus, Vorkommen auf verzweigten Rebenschossen. 628  
 — ununguis n. sp. Jacob, Schädling der Coniferen. 270  
 Tetrastichus xanthomelaenae, Feind der Galerucella luteola. 490  
 Thecospora s. Pucciniastrum Padi. 227  
 Thermostat. 247  
 Thielavia basicola Zopf, Impfversuche. 276  
 Thielaviopsis ethacetica, Ursache der Ananaskrankheit des Zuckerrohres. 795  
 Thirothrix, Biologie. 747  
 Tötungszeiten, supramaximale, der Sporen. 97  
 Tomaten, durch Fusarium erubescens geschädigt. 491  
 Tomaten, Wirt von Septoria Lycopersici. 271  
 Tomicus stenographus, Generationsfrage. 659  
 — suturalis, Generationsfrage. 659  
 — typographus, Generationsfrage. 659  
 Tortrix pilleriana, Bekämpfung in Frankreich. 449  
 — —, Fangversuche mittels Acetylenlampen. 87  
 — —, Vernichtung der Larven. 86  
 Torula rosea, Phosphorbedarf. 784  
 —, rote, Kohlenstoffbedarf. 778  
 —, —, Stickstoffbedarf. 783  
 —, —, Verhalten im Wasser. 696  
 —, weiße, Kohlenstoffbedarf. 780  
 —, —, Stickstoffbedarf. 783  
 Toxine, Bakterien, Besprechung. 742  
 Trametes stereoides, Ursache der Rotfäule des Buchenholzes. 483  
 Tremella faginea, Schädling des Rotbuchenholzes. 482  
 Tribolium ferrugineum, Schädling des La-Plata-Maises. 271  
 Trichosphaeria sacchari Massee, Ursache der Zuckerrohrkrankheit von Massee. 795  
 Trioza Scottii, Gallenbildung. 657  
 Tuberkel des Oelbaumes, Entwicklung und Struktur. 201  
 Tuberkelbildung bei Kartoffeln, Ursache. 491  
 Tuberkelkrankheit des Oelbaumes, Biologie des Erregers. 198  
 Turgorregulation bei den Hefen. 419  
 Tychius venustus, Gallenbildung. 279  
 Tylenchus, Struktur der erzeugten Gallen. 281  
 —, Ursache des Wurzelkropfes der Zuckerrübe. 486  
 Typhlocyba (Zygina) alneti Dahlberg, Vorkommen auf der Rebe. 83  
 — (Chlorita) flavescens Fabricius, Vorkommen auf der Rebe. 83  
 Typhlocyba (Zygina) rhamni Ferrari, Vorkommen auf der Rebe. 83  
 — (Eupteryx) viticola Targioni, Vorkommen auf der Rebe. 83  
 Tyroglyphinae, Lebensweise in Nahrungsmitteln. 606. 723  
 —, Pathogenität. 622  
 —, Widerstandsfähigkeit gegen Gifte. 723  
 —, Wirte von Pilzen. 619  
 Tyroglyphus ananas, Vorkommen. 723  
 — echinopus Fumouze et Robin, Vorkommen auf Hyacinthen. 723  
 — farinae, Einfluß des Wassergehaltes der Futtermittel auf dessen Vermehrung. 617  
 — —, Hungerzustand. 615  
 — — de Geer., Kultur und Nachweis. 610  
 — —, Wassergehalt. 618  
 — —, Widerstandsfähigkeit gegen Gifte. 724  
 — siro L., Vorkommen in der menschlichen Lymphe. 623  
 — —, Widerstandsfähigkeit. 728  
 Ulmus, Gallen, Bestimmungstabelle. 280  
 Unkräuter, landwirtschaftliche, Beschreibung und Vertilgung. 758  
 Uredineen, Entwicklungsgeschichte. 227  
 —, Infektionsversuche. 650  
 —, Kulturen 1904. 650  
 —, Terminologie. 650  
 Urobacillus Pasteuri s. Bacillus Pasteuri. 706  
 Ustilago Maydis auf Zea Mays, Gallenbildung. 759  
 Vakuolen, Vorkommen in Hefezellen. 61  
 Variation, Studien. 353  
 Verdauung, Selbst-, einiger Hefearten. 266  
 Verticillium glaucum, Vorkommen in der Luft. 266  
 Wachstum von Bakterien, Bestimmung der Sauerstoffminima. 337  
 Wärmeregulator. 247  
 Wasser, von Ost-Massachusetts, Vorkommen von Bakterien. 250  
 Wasser, Bakteriengehalt. 246  
 —, mikroskopische Untersuchung auf Mikroorganismen etc. 661  
 —, Sterilisierung durch Ozon. 662  
 —, Trink-, Filtrieren mittels Amiantporzellankerzen. 761  
 —, Veränderung der Mikrobenflora bei längerem Stehen. 695  
 Wasserbakterien s. Bakterien, Wasser-.  
 Wasserleitung von Eisenbahnen, Vorkommen von Bakterien. 246  
 —, Prager, Vorkommen von Bakterien. 544  
 Wasserleitungsröhren, Ursache der Rostbildung. 564  
 Wasserstoff, Oxydation durch Bakterien. 573  
 Wasserstoffsuperoxyd zur Konservierung von Milch. 663  
 — zur Sterilisierung der Milch. 20. 165  
 Wein, Abstich. 639  
 —, durch Bakterien getrübt. 474  
 —, Pasteurisieren. 501

- Wein, Verlust an Farbe durch Bakterien-  
einwirkung. 794  
—, Vorkommen von flüchtigen Säuren. 474  
Weine, Beeren-, Ursache der fehlerhaften  
Gärung. 474  
—, Jung-, kranke, deren Behandlung. 474  
Weinrebe, geschädigt durch *Chelonia caca*.  
493  
—, geschädigt durch *Heterodera radicola*.  
494  
—, geschädigt durch *Inoampelophaga*. 493  
Weinstock, Ursache des „Krauterns“. 492  
Weizen, Beizversuche. 666  
*Willia belgica*, Assimilierung von Selbst-  
verdauungsprodukten der Bierhefe. 798  
Wundreiz bei *Amygdaleen*. 366  
Wurzelbrand der Rüben, Ursache. 273  
— der Zuckerrübe, Ursache. 487  
Wurzelkropf der Zuckerrübe, Ursache. 486  
Wurzelkropfbildung der Obstbäume. Ur-  
sache. 652  
*Xestophanes potentillae*, Gallenbildung. 497  
Zersetzung der Fette. 53
- Zersetzung der Pflanzen, histologische und  
chemische Untersuchungen. 212  
Zinn im Licht und Dunkeln, Wirkung auf  
Bierwürze. 350  
— + Blei, Wirkung auf Bierwürze. 450  
— + Kupfer, Wirkung auf Bierwürze. 350  
— + Silber, Wirkung auf Bierwürze. 350  
*Zoocecidien* von *Ranunculaceen*. 657  
—, Vorkommen in Alençon. 279  
—, Vorkommen in der Normandie. 279  
Zuckerlösungen, Einfluß auf die Tötungs-  
temperatur von Hefen. 62  
Zuckerrohr, Schädlinge. 795  
—, Ursache der roten Faser. 794  
Zuckerrübe, Krankheiten und Feinde in  
Böhmen 1904. 272  
—, Ursache des Gürtelschorfes. 654  
—, Ursache des Wurzelkropfes. 486  
—, Wirt von *Cercospora beticola* Sacc. 487  
—, Wurzelbrand. 273. 487  
*Zygina alneti* s. *Typhlocyba alneti*. 83  
— *ramni* s. *Typhlocyba ramni*. 83  
Zymase. 478

### III. Verzeichnis der Abbildungen.

- Apparat (Luftpumpe) zur Kultur anaërober  
Bakterien. 338. 339. 340  
*Bacillus calidus*, Geißelfärbung (Taf., IV f).  
142  
— —, Sporangien (Taf., IV e). 142  
— —, Sporen, Keimung (Taf., IV b). 142  
— —, Sporen normal (Taf., IV a). 142  
— *cylindricus*, Geißelfärbung (Taf., Fig. I g).  
142  
— —, Sporen, Keimung (Taf., Fig. I b, c,  
d, f). 142  
— —, Sporen, normal (Taf., Fig. I a). 142  
— *methanicus* n. sp. Söhngen. 517  
— *robustus*, Geißelfärbung (Taf., II e).  
142  
— —, Sporangien (Taf., II d). 142  
— —, Sporen, Keimung (Taf., II b). 142  
— —, Sporen, normal (Taf., Fig. II a). 142  
— *tostus*, Geißelfärbung (Taf., III e). 142  
— —, Sporangien (Taf., III d). 142  
— —, Sporen, Keimung (Taf., III b). 142  
— —, Sporen, normal (Taf. III a). 142  
*Bacterium panis* n. sp. Fuhrmann (Taf.)  
544  
Bakterien, Alkohol bildend (Taf.). 320  
— der Prager Wasserleitung, Cytologisches  
(Taf. I—IV). 564  
—, Verarbeitung von Methan, Versuchs-  
anordnung. 514
- Brutschrank für niedere Temperaturen,  
elektrisch kontrolliert. 238. 239  
*Clostridium butyricum* Matzuschita (Taf. I,  
Fig. 1). 320  
Fette, Zersetzung, Versuchsanordnung. 423  
Käse, Blähung (Taf. I, Fig. 1, 2; Taf. II,  
Fig. 4). 605  
—, Emmentaler, Karbol-Thioninfärbung  
(Taf., Fig. 1—3). 150  
—, Gorgonzola-, Karbol-Thioninfärbung  
(Taf., Fig. 4). 150  
—, Grana-, Karbol-Thioninfärbung (Taf.,  
Fig. 5). 150  
— mit der Reinkultur des Blähungserregers  
hergestellt (Taf. I, Fig. 3). 605  
Kulturmanometer. 344. 345  
Kulturvacuum. 342. 343  
*Medicago sativa*, Blatt, in Gegenwart von  
*Bac. Comesii* maceriert (Taf., Fig. 2).  
215  
— —, Blattquerschnitt (Taf., Fig. 1). 215  
Mikroorganismus, Farbstoffbildung (Taf.).  
196  
Oelbaumtuberkel (Taf.). 138  
Rebe, Milbenkrankheit (Verzweigung). 624.  
625  
*Saccharomyces ellipsoideus* I Hansen,  
Kernteilung (Taf.). 777

### IV. Neue Literatur.

89. 188. 251. 285. 445. 504. 669. 763. 799.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.











41C  
523.





3 2044 102 988 334